ZUR KENNTNIS DER GHAMRAWY–REAKTION AUF HASCHISCH

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Sibylle Keilwagen

aus Heilbronn

1983

UNIV.
LIBRARY
IRVINE

ZUR KENNTNIS DER GHAMRAWY–REAKTION AUF HASCHISCH

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Sibylle Keilwagen

aus Heilbronn

1983

Tag der mündlichen Prüfung:	7. Juli 1983
Dekan:	Prof. Dr. J. Strähle
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. K.-A. Kovar
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. H.J. Roth

Die vorliegende Arbeit wurde im Januar 1978 unter Anleitung von Herrn Professor Dr. K.-A. Kovar am Pharmazeutischen Institut der Universität Tübingen begonnen und im März 1983 abgeschlossen.

Für die wertvollen Anregungen und die freundliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit danke ich Herrn Professor Dr. K.-A. Kovar sehr herzlich.

Meinen Freunden und Kollegen danke ich besonders für engagierte und ermutigende Diskussionen, die mir sehr geholfen haben.

Für Richard -
ohne den diese Arbeit vielleicht ein Jahr früher, sehr wahrscheinlich aber überhaupt nicht fertig geworden wäre.

Abstract

KEILWAGEN, SIBYLLE

ZUR KENNTNIS DER GHAMRAWY-REAKTION AUF HASCHISCH

Zum raschen Nachweis der Cannabisprodukte Haschisch und Marihuana wurde vom UN NARCOTICS LABORATORY u.a. auch die GHAMRAWY-Reaktion vorgeschlagen. Bei positivem Ausfall entsteht mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in konz. Schwefelsäure eine purpurrote Färbung, die beim Verdünnen mit Wasser nach Indigoblau umschlägt. Der Reaktionsmechanismus ist bisher nicht näher untersucht worden. Dies mag daran liegen, daß die Angaben zur Durchführung und Spezifität ungenau, lückenhaft und z.T. widersprüchlich sind.

Voruntersuchungen ergaben, daß für die eigentliche Farbreaktion die Cannabisinhaltsstoffe Cannabidiol, Tetrahydrocannabinol und deren Säuren verantwortlich sind. Aufgrund der Interpretationen der ^{13}C-NMR-Spektren von den Vergleichssubstanzen 3-Phenyl- bzw. 3-p-Tolyl-1-p-menthen-3-ol sowie der entsprechenden Elektronenspektren wird die Bildung eines Cyclohexenylcarbenium-Ions nachgewiesen, welches sich mit p-Dimethylaminobenzaldehyd zu einem Polymethincarbenium-Farbstoff umsetzt. Die entsprechenden Verbindungen aus den Modellsubstanzen wurden synthetisiert.

Die Kenntnis des Reaktionsmechanismus ermöglichte eine Optimierung der Reaktionsbedingungen und führte zu einer Arbeitsvorschrift, die selektiver als die ursprüngliche ist.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Elektronenspektroskopische Untersuchung der Reaktion von Haschisch-Petroletherextrakt mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in konz. Schwefelsäure (GHAMRAWY-Reaktion)	7
2.1	Optimierung der Reaktionsbedingungen	7
2.2	Eigenschaften des blauen Farbstoffes	16
2.3	GHAMRAWY-Reaktion nach dünnschichtchromatographischer Trennung	20
3.	Theoretische Überlegungen und Untersuchungen zur Einordnung des Reaktionsprinzips	23
3.1	Theorie der Aldehyd-Säure-Farbreaktionen	23
3.2	Untersuchungen zur Farbbildung	27
3.2.1	Reaktion mit Vergleichssubstanzen	29
3.2.2	Verhalten von Haschisch-Petroletherextrakt in konz. Schwefelsäure	30
3.2.3	Unterschiede im Reaktionsverhalten zwischen säurevorbehandeltem und nicht vorbehandeltem Haschischextrakt	32
4.	Untersuchung der GHAMRAWY-Reaktion an Cannabidiol	36
4.1	Darstellung von Cannabidiol	36
4.2	^{13}C-NMR-spektroskopische Untersuchung	38
4.3	Elektronenspektroskopische Untersuchung	42
5.	3-p-Tolyl-1-p-menthen-3-ol und 3-Phenyl-1-p-menthen-3-ol als Modellsubstanzen	47
5.1	Synthesen	47
5.2	IR-, MS- und ^{13}C-NMR-Spektren	48
5.3	Elektronenspektren der Modellsubstanzen in konz. Schwefelsäure	64
5.4	^{13}C-NMR-Spektren der Modellsubstanzen und des Cannabidiols in konz. Schwefelsäure	65

Seite

5.5 Elektronenspektren der Modellsubstanzen nach Umsetzung mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in konz. Schwefelsäure..... 77

6. Kinetische Messungen..... 80

7. Theorie der Farbreaktion und Ableitung eines hypothetischen Farbproduktes..... 92

8. Synthese und Eigenschaften von Vorstufen der postulierten Farbprodukte..... 96

8.1 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-1-cyclohexen-3-on..... 96

8.2 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-phenyl-1-cyclohexen-3-ol und 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-p-tolyl-1-cyclohexen-3-ol..... 106

8.3 Verhalten der Alkohole gegen Säuren..... 122

8.3.1 ^{13}C-NMR-Spektren in konz. Schwefelsäure..... 122

8.3.2 Elektronenspektren in konz. Schwefelsäure und 70proz. Perchlorsäure..... 133

8.3.3 Elektronenspektren in verdünnter Perchlorsäure.. 134

9. Diskussion..... 137

10. Zusammenfassung..... 143

11. Experimenteller Teil..... 147

12. Literaturverzeichnis..... 175

1. Einleitung

Bis in die Mitte des vorigen Jahrhunderts reichen die Anfänge der Bemühungen zurück, Aufschluß über die Natur der zahlreichen Substanzen zu erhalten, die in Cannabis sativa und ihren Zubereitungen (Marihuana, Haschisch) enthalten sind, und ohne deren Kenntnis weder eine rationale Analytik noch sinnvolle pharmakologische Untersuchungen möglich sind.

Die Reindarstellung und Strukturaufklärung der typischen Inhaltsstoffe, der sogenannten Cannabinoide, zu denen auch Δ^9-THC (= Δ^1-THC), die wichtigste genuin vorkommende halluzinogen wirksame Komponente, gehört, gestaltete sich deshalb besonders schwierig, weil die Cannabinoide weder durch Kristallisation noch durch Destillation voneinander zu trennen waren. Eine Trennung über bestimmte Derivate (Acetat, Dinitrobenzoat, Dinitrophenylurethan) gelang nur, wenn eine der Komponenten in relativ großer Menge im Destillat des Ether- oder Petroletherextraktes vorhanden war. Da diese Bedingung je nach Herkunft stark variiert, blieb es dem Zufall überlassen, ob eine Isolierung gelang oder nicht.

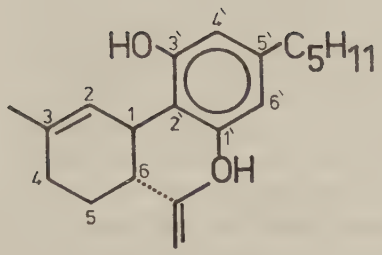
So konnte WOOD[1)] bereits im Jahre 1899 Cannabinol als Acetat erhalten, von den nachfolgenden Forschergruppen gelang es aber trotz intensiver Bemühungen erst wieder CAHN[2)] in den Jahren 1930 bis 1933, CBN zu isolieren und seine Struktur aufzuklären.

Erst nach der Entdeckung und Ausreifung modernerer chromatographischer Methoden wurde die Reindarstellung von Δ^9-THC und seine Strukturaufklärung mit Hilfe von ^{1}H-NMR-Spektroskopie durch GAONI und MECHOULAM[3)] im Jahr 1964 möglich. Seitdem wurden zahlreiche weitere Cannabinoide entdeckt und charakterisiert, so z.B. homologe Verbindungen, die statt der n-Pentyl- eine n-Propyl-Seitenkette tragen.

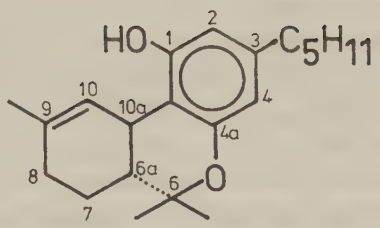
Nach einer Definition von MECHOULAM versteht man unter "Cannabinoiden" eine Gruppe von C_{21}-Terpenophenolen, die in

Cannabis sativa vorkommen und für diese Pflanze typisch sind, sowie deren Carbonsäuren, Homologe und Abwandlungsprodukte.
Bisher wurden über 300 Inhaltsstoffe aus verschiedenen Cannabispflanzen isoliert und aufgeklärt. Etwa 50 davon besitzen eine phenolische Grundstruktur.
Die wichtigsten Cannabinoide sind Cannabidiol (CBD)(1), Δ^9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9-THC = Δ^1-THC)(2), das - auch in der Pflanze - durch Isomerisierung (intramolekulare Addition einer phenolischen Hydroxylgruppe an die Doppelbindung des Isopropenrestes und dadurch Cyclisierung zum Dibenzopyranderivat) entsteht, und Cannabinol (CBN), welches ein Oxidationsprodukt von THC darstellt.
Außer den Cannabinoiden enthält C.sativa noch zahlreiche andere Inhaltsstoffe. Neben Chlorophyll und wasserlöslichen Alkaloiden, die sich in alkoholischen Auszügen finden, sind vor allem im Petroletherextrakt noch Pflanzenwachse und Bestandteile des ätherischen Öls enthalten. Bei diesen handelt es sich hauptsächlich um Terpene wie Caryophyllen, β-Humulen, α-Selinen, β-Farnesen, α-Bergamoten, β-Phellandren, Limonen und viele andere.

Die Benennung und Bezifferung der Cannabinoide wird dadurch kompliziert, daß zwei verschiedene Nomenklatursysteme gleichzeitig im Gebrauch sind. Zum einen ist es möglich, die Verbindungen nach den Regeln der IUPAC zu beziffern (s. Schema 1). Dies hat aber den Nachteil, daß sich beim Ringschluß zum Pyran die Bezifferung jedes C-Atoms ändert. Zum anderen wird eine Nomenklatur auf biogenetischer Basis angewendet. Dabei werden die Cannabinoide als substituierte Monoterpene betrachtet und so beziffert, wie es auch nach den Regeln der IUPAC für das Menthan-Grundgerüst üblich ist. Diese Bezifferung hat den Vorteil, daß ein C-Atom im Molekül bei den meisten chemischen Umwandlungen dieselbe Ziffer behält.



1 a

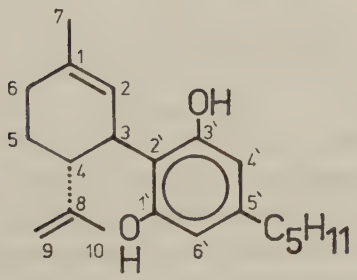


2 a

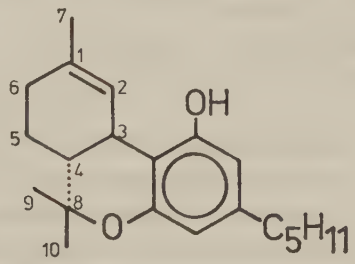
IUPAC-Bezeichnungen:

CBD: (1R)-trans-2-[3-Methyl-6-(1-methylethenyl)-2-cyclohexen-1-yl]-5-pentyl-resorcin

THC: (6aR)-trans-6a,7,8,10a-Tetrahydro-6,6,9-trimethyl-3-pentyl-6*H*-dibenzo[b,d]pyran-1-ol



1 b



2 b

Schema 1: Gegenüberstellung von IUPAC-Bezeichnungen (a) und Terpen-Nomenklatur (b) an Cannabidiol (1a/1b) und Tetrahydrocannabinol (2a/2b)

Auch für die qualitative und quantitative Bestimmung von C. sativa brachten die chromatographischen Methoden den Durchbruch. Beruhte früher der Nachweis von Marihuana und Haschisch vor allem auf Farbreaktionen, kombiniert mit pharmakognostischen Untersuchungen, so ist heute mit Hilfe der DC eine relativ schnelle, unkomplizierte und zuverlässige Identifizierung möglich, die gleichzeitig eine Abschätzung der Mengenverhältnisse der Cannabinoide erlaubt[4]. Für eine genauere Bestimmung wird man auf exaktere, wenngleich sehr viel aufwendigere Methoden wie HPLC und GC, jeweils auch in der Kopplung mit Massenspektrometrie, zurückgreifen.

Es wäre jedoch ein voreiliger Schluß, anzunehmen, daß dadurch die klassischen Farbreaktionen überflüssig geworden wären. Diese sind vielmehr als einfache und billige Schnellerkennungsmethode, z.B. für die Kriminalpolizei oder in der Apotheke, und als Grundlage für Farbreaktionen nach chromatographischer Trennung ("Detektion") zur Absicherung der Identifizierung und Erhöhung der Empfindlichkeit nicht zu entbehren.

Für Cannabis-Zubereitungen sind normalerweise folgende vier Farbreaktionen gebräuchlich:

- Reaktion nach BEAM (1911)[5]
  Als Reagens dient 5proz. ethanolische Kalilauge. Der Nachweis ist positiv, wenn sich nach einigen Minuten Stehenlassen an der Luft eine rotviolette Färbung zeigt.
- Reaktion nach GHAMRAWY (1937)[6]
  Die Reaktion gilt als positiv, wenn nach kurzem Erhitzen im siedenden Wasserbad mit dem Reagens (p-Dimethylaminobenzaldehyd in konz. Schwefelsäure) eine purpurrote Färbung entsteht, die beim Verdünnen mit Wasser in Indigoblau umschlägt.
- Reaktion nach DUQUENOIS und NEGM (1938)[7]
  Das Untersuchungsmaterial wird mit dem Reagens (Vanillin und Acetaldehyd in Ethanol) versetzt, danach mit demselben Volumen konz. Salzsäure; nach etwa 10 min.

entwickelt sich bei positivem Ausfall eine blauviolette Färbung, die sich mit Chloroform extrahieren läßt (Modifikation nach LEVINE[8]).

- Reaktion mit Echtblausalz B^R
  Die phenolischen Inhaltsstoffe werden mit einem stabilen Diazoniumsalz in alkalischer Lösung zu roten Azofarbstoffen gekuppelt.

Alle Farbreaktionen sollen mit dem Petroletherextrakt, nicht mit dem gesamten Untersuchungsmaterial durchgeführt werden, um die Spezifität der Farbreaktionen zu erhöhen.

Die letztgenannte Reaktion ist die jüngste der angewendeten Farbreaktionen. Sie wurde 1964 von KORTE und SIEPER[9] zur Detektion nach dünnschichtchromatographischer Trennung empfohlen. Die einzelnen Cannabinoide ergeben Azofarbstoffe von charakteristischen Absorptionsmaxima und visuell gut zu unterscheidenden Rottönen. Der Reaktionsmechanismus wurde von HAMMER-BARTHELS[10] untersucht. Auf dem gleichen Anfärbeprinzip beruht der Rauschgift-Schnelltest der Fa. Merck zum Nachweis eines Gemisches von Cannabinoiden.
Von den drei älteren, empirisch gefundenen Farbreaktionen ist nur die Reaktion nach BEAM aufgeklärt. MECHOULAM[11] konnte 1968 zeigen, daß nur Cannabinoide mit zwei freien m-ständigen phenolischen Hydroxylgruppen wie CBD, CBD-Carbonsäure und Cannabigerol eine positive BEAM-Reaktion eingehen. Durch Oxidation mit Luftsauerstoff im alkalischen Milieu entsteht ein o-Hydroxy-p-chinon, das weiter zum entsprechenden Dimeren oxidiert werden kann. Die purpurrote Färbung ist nur im alkalischen Milieu beständig und muß folglich von den zugeordneten Oxonol-Anionen herrühren.
Die Färbung mit Vanillin-Acetaldehyd in Salzsäure soll auf der Bildung von Triphenylmethanfarbstoffen beruhen, ist aber nicht sicher aufgeklärt[12,13].
Die GHAMRAWY-Reaktion ist noch nicht näher untersucht worden. Dies mag daran liegen, daß die Reaktion von vielen Autoren als unspezifisch abgelehnt wird[14]. Allerdings

sind auch die Angaben zur Durchführung und Spezifität der GHAMRAWY-Reaktion ungenau, lückenhaft und zum Teil widersprüchlich.
KORTE und SIEPER[9] verwendeten "GHAMRAWY-Reagens (p-Dimethylaminobenzaldehyd-Schwefelsäure)" zur Detektion nach dc Trennung und berichten, daß CBD, CBN und THC eine braunrote Färbung nach 15minütigem Erhitzen auf 105°C ergeben. Nach MACHBERT und LUKOWICZ[15] sollen ebenfalls "CBD, CBN und THC mit dem Reagens (p-Dimethylaminobenzaldehyd-Schwefelsäure) eine braunrote Färbung" hervorbringen.
VÖLKSEN[16] detektiert mit EHRLICHS Reagens, und man kann den Abbildungen der Chromatogramme entnehmen, daß vor allem CBD und THC, weniger deutlich CBN angefärbt werden.
Eine sehr gründliche und sorgfältige Untersuchung des UN narcotics laboratory[17,18] stellt fest, daß neben allen untersuchten Haschischproben auch andere Pflanzen, vor allem aus der Familie der Lamiaceen, eine positive GHAMRAWY-Reaktion ergeben. Von den untersuchten Reinsubstanzen reagieren CBD, allerdings auch zahlreiche Terpene (Cymol, Caryophyllen, Citronellal, Citronellol, Limonen, α-Phellandren, α-Pinen, β-Pinen, Terpineol) positiv. Weitere Cannabinoide wurden offenbar nicht untersucht.

Da die Angaben für die Nachweisreaktion nach GHAMRAWY von Cannabis sativa, die immerhin von den meisten Autoren angeführt und empfohlen wird, doch sehr ungenau sind, erschien es sinnvoll

- die Bedingungen der Reaktion mit Hilfe physikalischer Methoden zu optimieren, anstatt sie nur nach subjektivem Farbeindruck festzulegen
- die für die Reaktion in Cannabiszubereitungen verantwortlichen Stoffe herauszufinden und
- nach Möglichkeit die entstandenen Farbstoffe zu isolieren und das Reaktionsprinzip aufzuklären.

2. Elektronenspektroskopische Untersuchung der Reaktion von Haschisch-Petroletherextrakt mit p-Dimethylaminobenzaldehyd (p-DMAB) in konz. Schwefelsäure (GHAMRAWY-Reaktion)

2.1 Optimierung der Reaktionsbedingungen

Bei dem Versuch, in einem unbekannten Untersuchungsmaterial Atropin mit Hilfe von WASICKYS Reagens (einer Lösung von 20 g p-DMAB in 60 g konz. Schwefelsäure) nachzuweisen, fand GHAMRAWY[6] eine auffallende Rotfärbung, die beim Verdünnen mit Wasser in Dunkelblau umschlug. Da sich herausstellte, daß die Probe Haschisch enthalten hatte, überprüfte er die neue Nachweisreaktion an verschiedenen Haschisch- und Marihuanaproben mit gutem Erfolg, auch an solchen, die mit den damals allein bekannten Tests nach BEAM[5] keine Reaktion zeigten. Es gelang ihm, die Reaktionsbedingungen nach folgender Vorschrift zu optimieren: Ein Petrolätherextrakt von 3 mg Haschisch wird in einer Porzellanschale auf dem siedenden Wasserbad eingedampft, mit einem Tropfen Reagens (dies dürfte etwa 5 mg p-DMAB entsprechen) versetzt, 1 min erhitzt, abgekühlt und mit 1 ml kaltem Wasser verdünnt. Die Reaktion gilt als positiv, wenn die Lösung in konzentrierter Säure nach dem Erhitzen purpurrot und nach dem Verdünnen mit Wasser Iodstärke-blau oder Indigo-blau ist. Durch längeres Erhitzen (bis zu 5 min) läßt sich die rote Färbung intensivieren; aus Gründen der Selektivität wird jedoch die kürzere Reaktionszeit empfohlen. Ein größerer Überschuß an Reagens sei zu vermeiden, da der Aldehyd selbst beim Verdünnen eine Gelbfärbung gebe, die das Blau zu einem Grünton überlagere. Als Reagens sei am besten eine Lösung von 2 g p-DMAB in 10 ml konz. Schwefelsäure geeignet, der 2 ml Wasser zugefügt werden. Dies ergebe eine bessere Blaufärbung ("finer tint") als die gleichermaßen verwendbare 20proz. Lösung in konz. Schwefelsäure. Ebenso soll dadurch die Beständigkeit der blauen Färbung verbessert werden, die je nach eingesetzter Haschischmenge (einige Milligramm bis zu einem halben Gramm) von wenigen Minuten bis zu

mehreren Stunden variieren soll. Um diese Angaben zu überprüfen, wurde der erste Schritt der Farbreaktion, die Bildung des roten Farbstoffes in konz. Schwefelsäure, elektronenspektroskopisch untersucht. Unter Konstanthaltung der Reaktionstemperatur (100°C) wurden folgende Parameter variiert:

- Reagenskonzentration
- Mengenverhältnis der Reaktionspartner
- Reaktionsdauer

Die Konzentration der Reagenslösung ist in g p-DMAB pro 100 ml Lösung in konz. Schwefelsäure angegeben. Die Konzentrationsangabe des Haschischs ebenso wie die $E^{1\%}_{1cm}$-Werte beziehen sich auf die ursprünglich eingesetzte Menge Haschisch. Da ein Gramm nur etwa 200 mg Petrolether-extrahierbare Stoffe enthält, bedeutet ein Verhältnis der Reaktanden von 1:1 einen mindestens fünffachen Überschuß an Reagens.

Das 20proz. Reagens mit der ursprünglichen GHAMRAWY-Konzentration bringt bei einem Ansatzverhältnis von 1:1 bereits nach halbminütigem Erhitzen eine purpurrote Farblösung hervor, deren Elektronenspektrum (Abb.1) Maxima bei 400, 520 und 550 nm besitzt. Bei längerem Erhitzen verschwinden diese, und es erscheint ein neues Maximum bei 480 nm. Parallel zu dieser Veränderung wechselt der Farbton der Lösung von purpur- nach orangerot, und die beim Verdünnen mit Wasser entstehende Blaufärbung erhält einen graugrünen Stich.

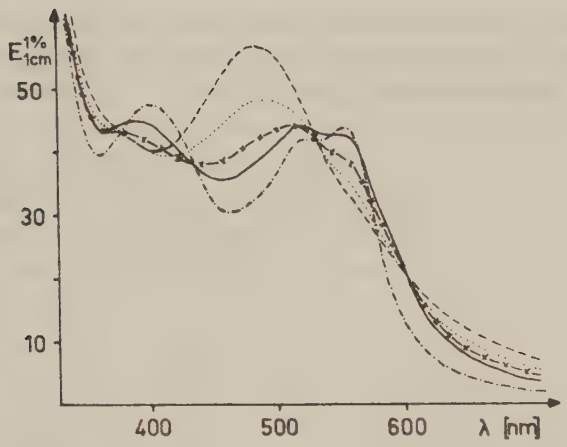


Abb.1: Elektronenspektren aus der Reaktion von Haschisch-Petroletherextrakt mit p-DMAB 20% in konz. Schwefelsäure

Ansatzverhältnis 1:1 Meßkonzentration 0,1 mg/ml

Reaktionstemperatur 100°C

Reaktionszeit [min]	Probe	
0,5	1	-.-.-.-
1,5	2	———
2,5	3	-x-x-x-
4,5	4	·····
9,5	5	-------

Eine Steigerung des Reagenzüberschusses auf das Zehnfache bringt keine Verbesserung, eher eine Verschlechterung der Farbbildung (Abb.2). Die Extinktionen bei 520 und 550 nm sind wesentlich geringer, und das für die Orangefärbung verantwortliche neue Maximum erscheint bereits nach 5 min Reaktionszeit.

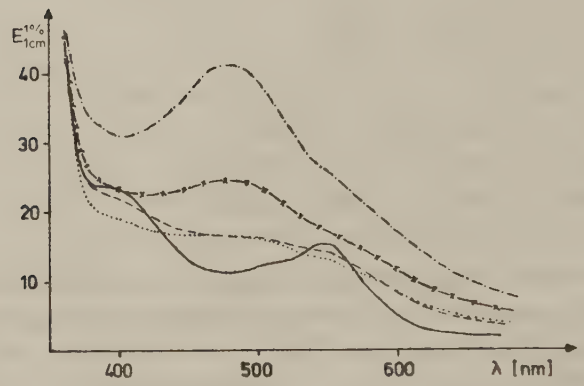


Abb.2: Elektronenspektren der Reaktion von Haschisch-Petroletherextrakt mit p-DMAB/konz. Schwefelsäure 20%
Ansatzverhältnis Haschisch : p-DMAB 1 : 10
Meßkonzentration (bezogen auf Haschisch) 0,1 mg/ml
Reaktionstemperatur 100°C

Reaktionszeit [min]	Probe	
0,75	1	———
2	2	.....
3	3	-------
5	4	-x-x-x-
10	5	-.-.-.-

Da bei der hohen Reagenzkonzentration offenbar sehr schnell weitere im Bereich des sichtbaren Lichts absorbierende Substanzen entstehen, wurden weniger konzentrierte Lösungen getestet.
Eine 10proz. Reagenzlösung bringt bei konstanter Reaktionszeit von 3 min und Ansatzverhältnissen von 1:1 und 1:10 Elektronenspektren hervor (Abb.3), die den mit 20proz. Reagens erhaltenen stark ähneln (vgl. Abb.1). Bei einem Verhältnis von 1:10 (was nur einem geringfügigen Überschuß an Haschisch entspricht!) zeigen sich dagegen zwei bisher nicht beobachtete Maxima bei 545 und 418 nm.

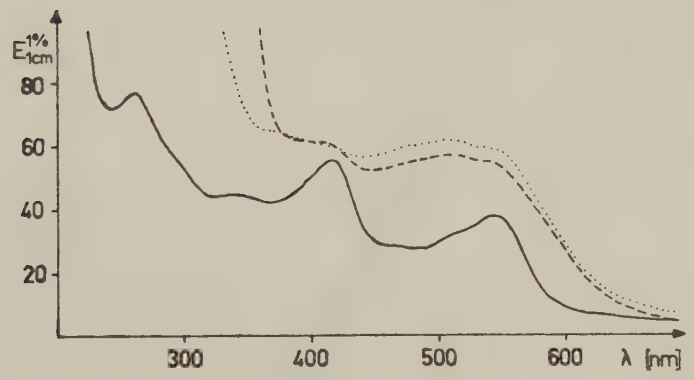


Abb.3: Elektronenspektren aus der Reaktion von Haschisch-Petroletherextrakt mit p-DMAB/Schwefelsäure 10%
Reaktionszeit (100°C) 3 min

Probe		Ansatzverhältnis Haschisch : p-DMAB
1	———	10 : 1
2	·····	1 : 1
3	-------	1 : 10

Setzt man den Aldehyd im fünffachen Überschuß ein und verfolgt die Veränderung in Abhängigkeit von der Reaktionszeit (Abb.4), so beobachtet man zunächst die Zunahme eines Maximums bei 555 nm mit Schulter bei 520 nm. Nach mehr als 3 min Reaktionszeit verschwindet es allmählich, und ein neues tritt auf bei 480 nm. Diese Erscheinung ist schon vom 20proz. Reagens (Abbn. 1 und 2) bekannt, verläuft dort aber schneller als hier.

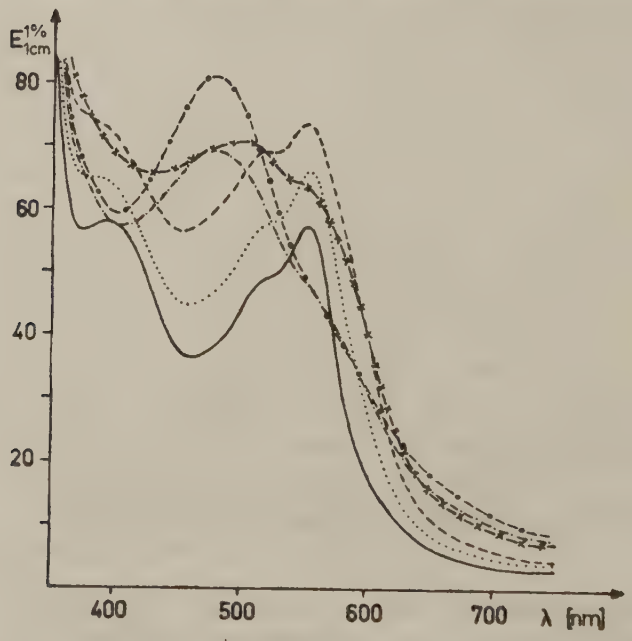


Abb.4: Elektronenspektren aus der Reaktion von Haschisch-Petroletherextrakt mit p-DMAB/Schwefelsäure 10%
Ansatzverhältnis Haschisch : p-DMAB 1 : 5

Reaktionszeit [min] (100°C)	Probe	
1	1	———
2	2	.....
3	3	-------
5	4	-x-x-x-
8	5	-.-.-.-
12	6	--o--o--

Erniedrigt man die Reagenzkonzentration auf 1%, so zeigen die erhaltenen Elektronenspektren bei allen Konzentrationsverhältnissen ein Maximum bei 542 nm (Abb.5). Bei einem Überschuß an Haschisch sind daneben noch Maxima bei 265 und 418 nm zu sehen, während ein 10facher Überschuß des Aldehyds nur das Maximum bei 542 hervorruft, jedoch mit deutlich geringerer Intensität.

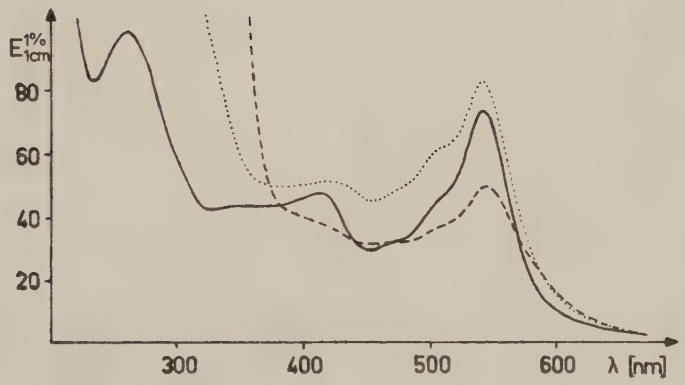


Abb.5: Elektronenspektren aus der Reaktion von Haschisch-Petroletherextrakt mit p-DMAB/Schwefelsäure 1%
Reaktionszeit (100°C) 3 min

Probe		Ansatzverhältnis Haschisch : p-DMAB
1	———	10 : 1
2	·····	1 : 1
3	-------	1 : 1o

Da das 1proz. Reagens beim Verhältnis 1:1 die höchste Extinktion hervorbringt, wurde die reaktionszeitabhängige Veränderung der Elektronenspektren unter diesen Bedingungen untersucht.
Wie die Abb.6 zeigt, ist bereits nach 30 sec neben dem Maximum bei 418 nm das Entstehen der Absorption bei 542 nm zu beobachten. Diese wächst stark an; sie hat nach 2 min einen $E^{1\%}_{1cm}$-Wert von 70,5 erreicht, der bei weiterem Erhitzen wieder leicht abnimmt.

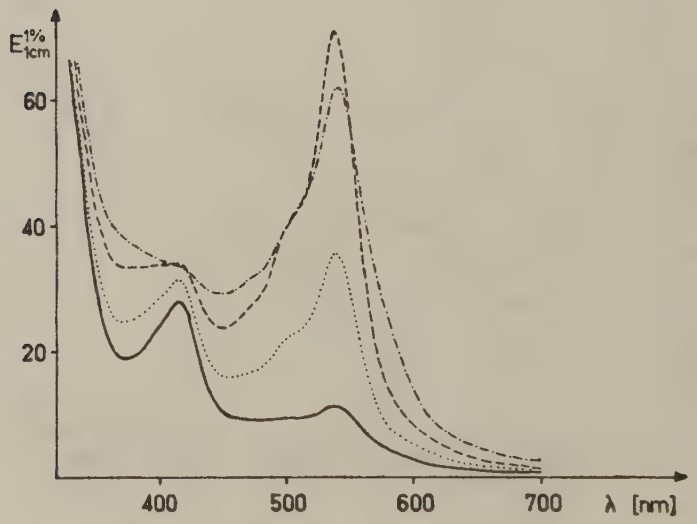


Abb.6: Elektronenspektren aus der Reaktion von Haschisch-Petroletherextrakt mit p-DMAB/Schwefelsäure 1%
Ansatzverhältnis Haschisch : p-DMAB 1 : 1

Reaktionszeit [min] (100°C)	Probe	
0,5	1	———
1	2	.....
2	3	-------
9	4	-.-.-.-

In verschiedenen Ansätzen schwanken die erreichbaren Extinktionen im Maximum bei 542 relativ stark (Abb.7), jedoch ist ihre reaktionszeitabhängige Veränderung qualitativ dieselbe: zu Beginn ein steiler Anstieg der E_{542}, der sich nach etwa 2 min abflacht, dann eine zuerst stärkere, später geringere Abnahme.

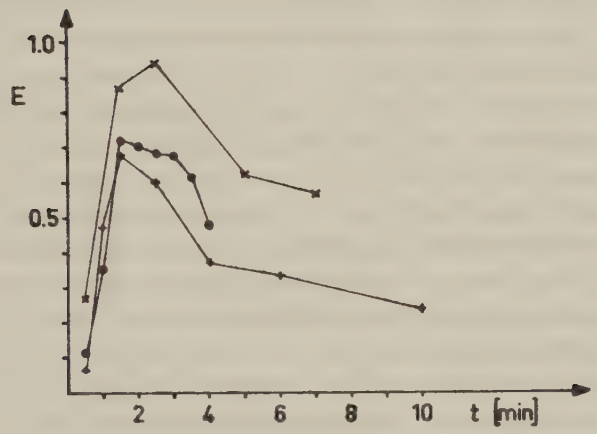


Abb.7: Reaktion von Haschisch-Petroletherextrakt mit p-DMAB/Schwefelsäure 1%
Ansatzverhältnis 1 : 1 Meßkonzentration 0,1 mg/ml
Extinktionen im Maximum bei 542 nm aufgetragen gegen die Reaktionszeit bei 100°C
aus drei verschiedenen Ansätzen (+++, xxx, ooo)

Die GHAMRAWY-Reaktion läßt sich aufgrund dieser Versuche folgendermaßen optimieren:

Die reinste Rotfärbung in konz. Schwefelsäure und das klarste Blau beim Verdünnen mit Wasser erhält man mit einer 1proz. Lösung von p-DMAB in konz. Schwefelsäure als Reagens. Der Aldehyd soll in etwa 10fachem Überschuß eingesetzt werden, was am leichtesten mit einem Ansatzverhältnis von Haschisch zu p-DMAB von 1:1 erreicht wird. Eine optimale Ausbildung der purpurroten Färbung erhält man nach einer Reaktionszeit von 2 bis 3 min im siedenden Wasserbad. Bei geringfügig kürzerer Reaktionsdauer (oder höherer Haschischkonzentration) ist zusätzlich eine Absorption bei 418 nm vorhanden, die den Farbton der Lösung nach Gelbrot verschiebt. Dies ist für das Erkennen der charakteristischen Färbung nachteiliger als ein längeres Erhitzen, durch welches nur eine allmähliche Zersetzung des purpurroten Farbstoffes bewirkt wird. Man erkennt diesen Vorgang an einer Grauviolett-Färbung der Lösung und kann an den Elektronenspektren eine Verbreiterung und Intensitätsabnahme beobachten.
Das von GHAMRAWY verwendete 20proz. Reagens erscheint zu konzentriert. Vor allem bei einem großen Überschuß an Reagens wird der charakteristische Farbstoff mit Maximum bei 542 nm, der für die Blaufärbung beim Verdünnen verantwortlich ist, kaum noch gebildet. Es entsteht vielmehr ein Farbstoff mit einem Absorptionsmaximum bei 480 nm, der in der konz. Säure uncharakteristisch braunorange und in der wäßrigen Lösung schmutzig grünblau gefärbt ist.

2.2 Eigenschaften des blauen Farbstoffes

Alle Lösungen, die zwischen 500 und 560 nm ausgeprägte Absorptionen zeigen und im übrigen sichtbaren Bereich nur geringe Extinktionen aufweisen (z.B. Abb.5, 1-3; Abb.6, 3), sind purpurrot gefärbt und ergeben beim Verdünnen mit Wasser eine intensive Blaufärbung.

Vorteilhaft ist, die Säure in feinem Strahl in kaltes Wasser zu gießen, anstatt sie - wie nach der Originalvorschrift für kleinste Mengen - mit dem Wasser zu versetzen. In dieser Reihenfolge erscheint die Blaufärbung sogar deutlicher. Die blaue Lösung ist jedoch in jedem Fall nicht beständig; sie verblaßt schon nach wenigen Sekunden, wird blaugrau und trübe, so daß man auf eine Zersetzung des Farbstoffes schließen kann.
Die blaue Farbe entsteht auch, wenn man zur Verdünnung Methanol oder Ethanol verwendet. Selbst mit Ether oder Aceton erhält man eine violettblaue, aber sehr viel blassere Färbung.
Auffallend ist, daß beim Verdünnen in Eisessig die purpurrote Färbung in ein klares Violettrot übergeht. Dieser Farbwechsel läßt sich mit der Verschiebung des Absorptionsmaximums von 542 nach 535 nm (Abbn.8a,b) nicht erklären, da eine hypsochrome Verschiebung umgekehrt einen Wechsel von Violett nach Rot hervorrufen müßte. Jedoch zeigt die Lösung in Eisessig ein ausgeprägtes Minimum zwischen 400 und 470 nm, während alle übrigen Farbstofflösungen in konz. Säure in diesem Bereich eine hohe Grundabsorption besitzen. Diese Absorption des violetten bis blauen Lichtes verschiebt die eigentlich violettrote (durch Absorption zwischen 500 und 570 nm hervorgerufene) Farbe nach Rot. Visuell lassen sich dagegen die wäßrigen Lösungen nicht von den methanolischen unterscheiden. Im Elektronenspektrum der wäßrigen Lösung (Abb.8c) ist nur eine breite Absorption von 500 bis 750 nm (Maximum etwa bei 600 nm) zu erkennen, während im Spektrum der methanolischen Lösung zwei Maxima bei 710 und 653 nm sowie eine Schulter bei 600 nm auftreten.

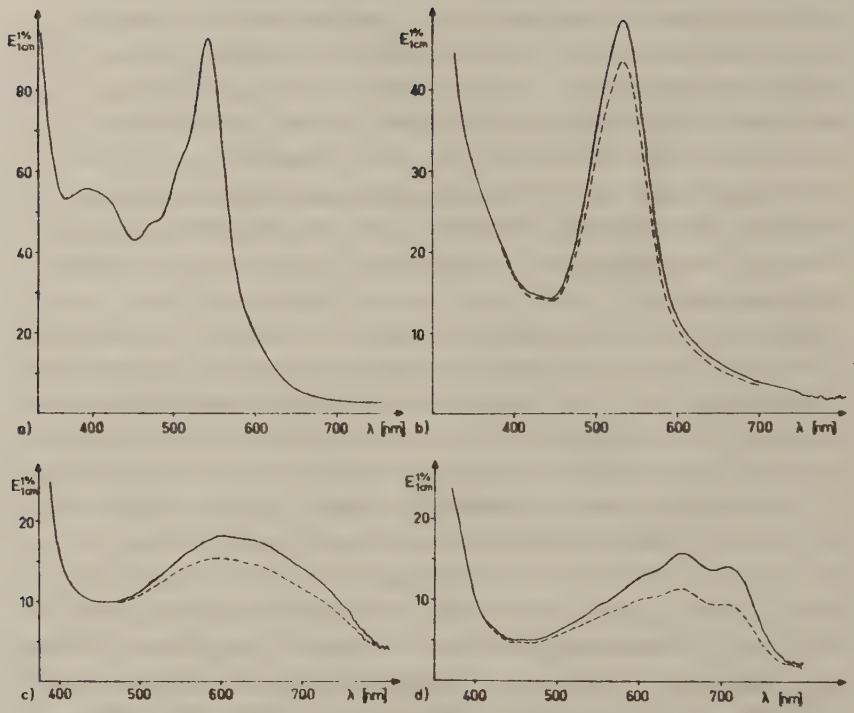


Abb.8a-d: Elektronenspektren aus der Reaktion von Haschisch-Petroletherextrakt mit p-DMAB/Schwefelsäure 1%
Ansatzverhältnis 1 : 1 Reaktionszeit 2 min (100°C)
zum Messen verdünnt auf 0,2 mg/ml
mit a) konz. Schwefelsäure
b) Eisessig
c) Wasser
d) Methanol

———— 30 sec nach Verdünnen gemessen
- - - - - - - 5 min nach Verdünnen gemessen

Wie die Elektronenspektren zeigen, sind die Farbstoffe in allen drei zur Verdünnung gewählten Lösungsmitteln instabil. Mit der Aufnahme des ersten Spektrums wurde 30 sec, mit der des zweiten 5 min nach dem Verdünnen begonnen. Da der maximale Wellenlängenvorschub 100 nm/min beträgt, stellt auch das jeweils erste Spektrum schon eine teilweise zersetzte Substanz dar.

Versetzt man die rote Farblösung in konz. Schwefelsäure sehr langsam unter Rühren und Kühlen mit Wasser, so ist keine Blaufärbung zu beobachten. Vielmehr wechselt die Farbe von Rot über schmutzig Violett nach Graublau.

Die dunkelblaue Lösung, die durch schnelles Verdünnen gewonnen wird, läßt sich durch Alkalisieren mit 20proz. Natronlauge entfärben. Die entstandene blaßgelbe Lösung färbt sich nach Ansäuern mit konz. Schwefelsäure wieder blaßblau.

Weder der rote noch der blaue Farbstoff lassen sich mit einem organischen Lösungsmittel ausschütteln (Petrolether, Toluol, Diethylether, Chloroform, Dichlormethan, Ethylacetat).
Auffallend ist jedoch, daß bei Durchführung der Farbreaktion mit 70proz. Perchlorsäure, wobei die gleichen Elektronenspektren mit Maxima bei denselben Wellenlängen gebildet werden, unter bestimmten Bedingungen ein blauer Farbstoff ausschüttelbar ist. Überschichtet man die Perchlorsäure mit Dichlormethan und verdünnt mit wenig Wasser auf eine etwa 60proz. Säurekonzentration, so färbt sich nach dem Schütteln die Dichlormethanphase blau, während das Purpurrot der Säurephase erhalten bleibt. Dieses verschwindet erst bei weiterer Wasserzugabe.

2.3 GHAMRAWY-Reaktion nach dünnschichtchromatographischer Trennung

Nachdem diese Versuche bestätigt hatten, daß Haschisch-Petroletherextrakt mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure eine charakteristische Farbreaktion eingeht, stellte sich die Frage, welche der darin enthaltenen Stoffe für die Färbung verantwortlich sind. Da die Literaturangaben zu diesem Punkt - wie in der Einleitung erläutert - spärlich und z.T. widersprüchlich sind, wurde ein Haschisch-Petrolether-extrakt nach MACHATA[19] mit Petrolether 50/70 + Ether 80 + 20 dünnschichtchromatographisch getrennt und die Farbreaktion sowohl auf der DC-Platte als auch mit von der DC-Platte eluierten Reinstoffen durchgeführt.

Für die Detektion auf der Platte wurden folgende Sprühreagenzien verwendet:

- 0,5proz. Lösung von Echtblausalz BB^{R} in Methanol, Nachsprühen mit 0,1 N-NaOH (1)
- 1proz. Lösung von Dichlorchinonchlorimid in Ethanol 96% (2)
- 10proz. Lösung von p-DMAB in konz. Schwefelsäure (3a)
- p-DMAB-Sprühreagens (eine Lösung von 3 g p-DMAB in 100 ml Ethanol 96%, mit 20 ml konz. Schwefelsäure versetzt) (3b)

Die Färbungen mit (1) entwickeln sich schon bei Raumtemperatur, die mit (2), (3a) und (3b) besprühten Platten müssen 5 min bei 100°C erhitzt werden.

Tab.1: Anfärbungen der Haschisch-Inhaltsstoffe mit den Sprühreagenzien (1) - (3)

Substanz	R_f	Anfärbung			
		Echtblau BB (1)	DCCI (2)	p-DMAB/konz. Schwefelsäure (3a)	p-DMAB-Sprühreagens (3b)
CBD (1)	0,58	orange	violett	purpurviolett	rötl.violett
Δ^1-THC (2)	0,52	cyclamrot	violett	violett	blaßviolett
CBN (4)	0,46	violettrot	violett	hellolivgrün	blaßbeige
CBDA (5)	0,2	orange	braunviolett	violett	violett

Die Empfindlichkeit der Sprühreagenzien ist vergleichbar. Eine Menge von 1µl Haschischextrakt (≙ 10µg Haschisch) läßt sich am Hauptinhaltsstoff CBD gerade noch erkennen. Die Anfärbung mit Echtblausalz BB^{R} erscheint am deutlichsten und erfaßt auch noch das mit den übrigen Reagenzien nicht mehr detektierbare CBN.
Bei den p-DMAB enthaltenden Reagenzien fällt auf, daß der Farbton der entstandenen Substanzflecke stark von der Substanzkonzentration auf der Platte abhängig ist. Dies ist bei Echtblau BB und Dichlorchinonchlorimid nicht der Fall. Besonders bemerkenswert erscheint, daß die typische purpurrote GHAMRAWY-Färbung hauptsächlich von CBD, CBDcarbonsäure und THC hervorgebracht wird. CBN zeigt sowohl eine andere Färbung (grünlich-gelb) als auch eine geringere Empfindlichkeit mit den p-DMAB-Reagenzien.

Um dieses Ergebnis zu überprüfen, wurde die Reaktion mit dc-getrennten Substanzen wiederholt.
Eine 5 mg Haschisch entsprechende Menge Petroletherextrakt wurde strichförmig auf eine DC-Platte mit 0,25 mm Schichtdicke aufgetragen und wie oben beschrieben getrennt.
Zur Identifizierung wird an den Rändern mit Echtblau BB^{R} detektiert und die substanzbeladenen Kieselgelbanden ausgekratzt. Diese werden jeweils in einer kleinen Trichtersäule mit Dichlormethan eluiert und zu 5 ml aufgefüllt.
Eine 2 mg Haschisch entsprechende Menge Reinsubstanz wird mit 0,1 ml 1proz. p-DMAB-Schwefelsäure 2 min im siedenden Wasserbad erhitzt, rasch abgekühlt und mit konz. Schwefelsäure im Verhältnis 1 : 100 verdünnt.

Wie die Abb.9 zeigt, stimmen die Spektren von CBD und THC gut mit dem Spektrum des Haschisch-Gesamt-Extraktes überein; die Absorptionsmaxima liegen bei 545 nm (THC) bzw. 542 nm (CBD) mit einer Schulter bei etwa 505 nm. Die Farbe der Lösungen ist rein purpurrot. Dagegen zeigt das CBN-Spektrum Maxima bei 462 und 494 nm mit einer Schulter bei 540 nm. Die Lösung ist blaß orangebraun gefärbt.

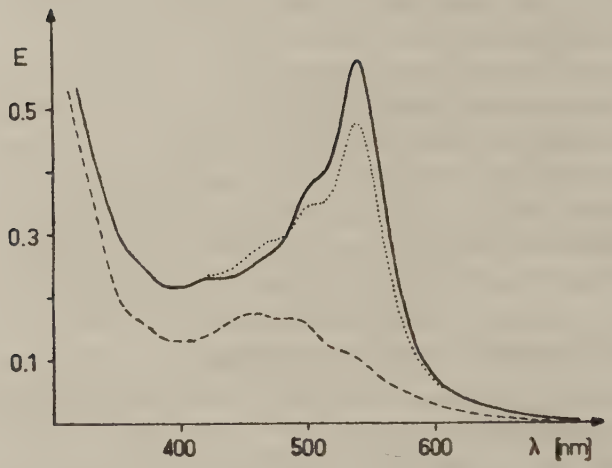


Abb.9: Elektronenspektren der Reaktionsprodukte von dc-getrennten Haschisch-Inhaltsstoffen mit p-DMAB/konz. Schwefelsäure 1%
Ansatz: Reinsubstanz aus 2 mg Haschisch und 1 mg p-DMAB in 0,1 ml konz. Schwefelsäure 2 min (100°C)
Meßkonzentration: 2 mg "Haschisch"/10 ml
CBD .....
THC ———
CBN -------

3. Theoretische Überlegungen und Untersuchungen zur Einordnung des Reaktionsprinzips

3.1 Theorie der Aldehyd-Säure-Farbreaktionen

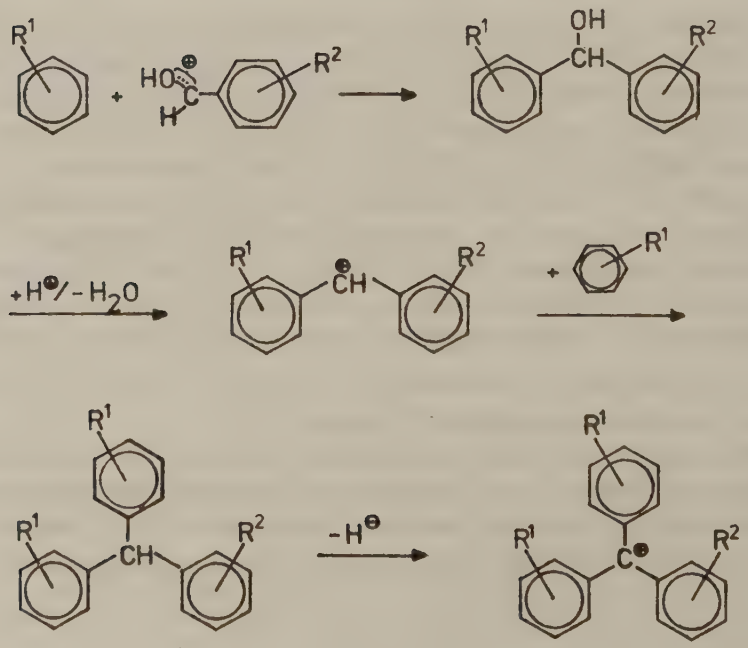
Nachdem geklärt ist, daß hauptsächlich CBD und THC für die Bildung des roten Farbstoffes verantwortlich sind, wird nach einer Möglichkeit gesucht, nähere Kenntnisse über die Natur des entstandenen Farbproduktes zu erhalten. Der Versuch, die farbige(n) Substanz(en) zu isolieren, scheitert daran, daß der Farbstoff sich weder aus konzentrierter noch aus verdünnter Säure mit organischen Lösungsmitteln ausschütteln läßt und außerdem in wäßriger Lösung nicht beständig ist. Weiter erscheint es wenig aussichtsreich, aus einem Reaktionsansatz, in dem schon das Ausgangssubstrat ein komplexes Gemisch darstellt, charakteristische Zersetzungsprodukte eines Farbstoffes von unbekannter Struktur und unklaren Eigenschaften isolieren zu wollen.

Es fällt jedoch auf, daß die GHAMRAWY-Reaktion in ihrem Ablauf eine gewisse Verwandtschaft zu anderen bekannten Farbreaktionen erkennen läßt, in denen ein aromatischer Aldehyd als Reagens - meist p-DMAB oder Vanillin - in einem stark sauren Medium, meist hochkonzentrierter Schwefelsäure, seltener Perchlorsäure in Eisessig oder Trichloressigsäure in konz. Salzsäure, mit den nachzuweisenden Substanzen farbige Verbindungen bildet. Zahlreiche Beispiele für solche Reaktionen und deren Anwendung für quantitative Bestimmungen finden sich in KAKAC/VEJDELEK, Handbuch der Kolorimetrie [20].

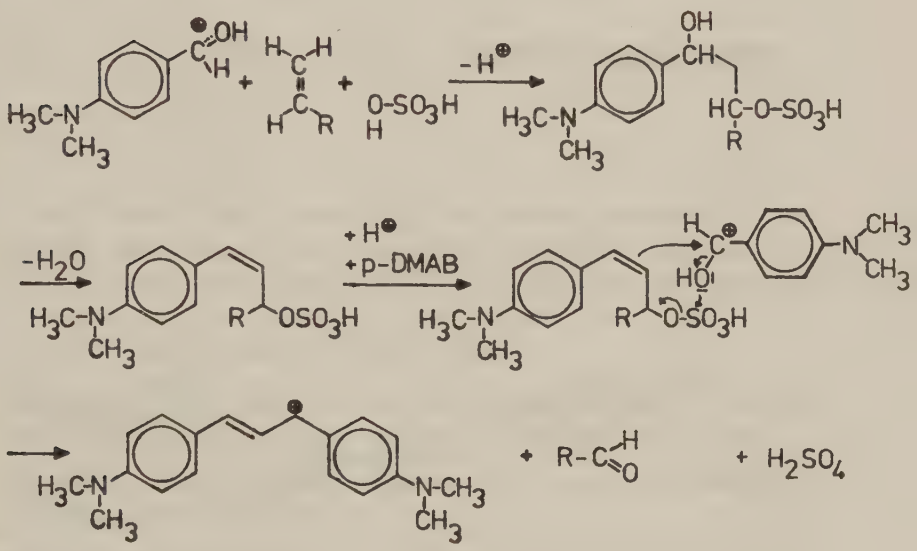
Als Ursache für die Färbung sind zwei völlig unterschiedliche Reaktionstypen nachgewiesen worden:

- Eine große Anzahl von Substanzen reagiert mit dem aromatischen Aldehyd unter Bildung von Triarylmethanfarbstoffen. Vorbedingung ist das Vorliegen eines (z.B. durch Amino- oder Hydroxylgruppen) aktivierten aromatischen Systems.

Der im sauren Milieu als Carboxonium-Ion vorliegende Aldehyd greift den Aromaten elektrophil in para-Stellung an, und es entsteht ein substituierter Benzylalkohol. Durch Protonierung und nachfolgende Wasserabspaltung bildet sich ein sekundäres Carbenium-Ion, das dann einen zweiten Aromaten angreift. Das entstandene Triarylmethanderivat, die sogenannte Leukobase, erleidet durch Oxidationsmittel eine Dehydrierung zum farbigen Triarylmethyl-Carbenium-Ion. Dieser Reaktionsablauf wurde z.B. für den Nachweis des Antazolins mit EHRLICHS Reagens von MÖHRLE und WALDHEIM[21], für die VAN URK-Reaktion an Tryptophan von PINDUR[22] bewiesen. Der Mechanismus dieser Reaktionen stimmt mit zahlreichen wohlbekannten Reaktionen überein; es sei nur an die Synthese von Malachitgrün und DDT, die Hydroxymethylierung und Chlormethylierung erinnert.

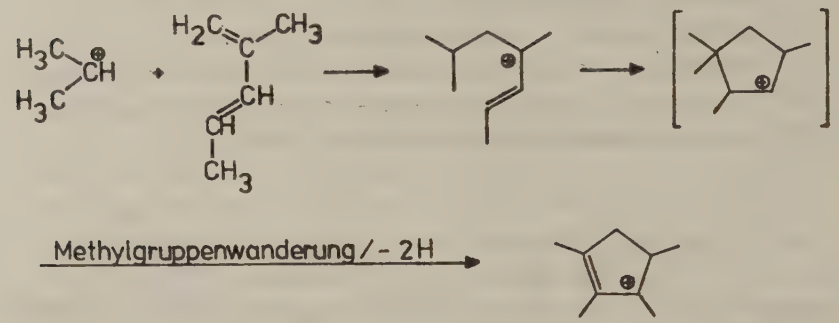


- Große Schwierigkeiten hat lange Zeit jedoch die Erklärung der Reaktivität von nicht-aromatischen Verbindungen gemacht (Olefine und Alkohole, Terpene wie Campher, 1,8-Cineol oder Menthol).
  - Als Farbprodukt aus der Reaktion aus p-DMAB mit verschiedenen höheren Alkoholen wurde von BRIESKORN und OTTENEDER[23] ein Polymethinfarbstoff postuliert, der nach folgendem Mechanismus entstehen soll:

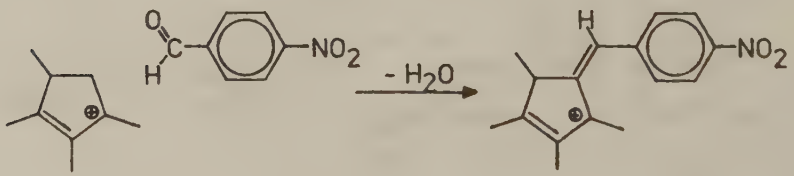


  - Bei der Untersuchung der Reaktion von höheren Alkoholen mit p-Nitrobenzaldehyd identifizierten AUTERHOFF und LANG[24] jedoch andersartige Farbprodukte. Sie konnten zeigen, daß aus dem Alkohol in konz. Schwefelsäure zunächst Cyclopentenylcarbenium-Ionen entstehen. Diese werden - wie DENO und Mitarbeiter[25] am Beispiel der isomeren Butanole als erste fanden - durch komplexe Polymerisierungs-, Disproportionierungs- und Cyclisierungsreaktionen aus Alkoholen und Olefinen gebildet.

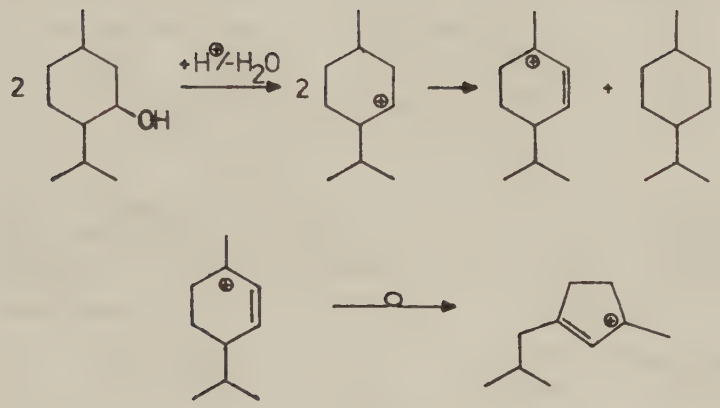
In der Dissertation von C.J.LANG findet sich folgendes Reaktionsschema, das die Bildung der Cyclopentenylcarbenium-Ionen illustriert:



Das Cyclopentenylcarbenium-Ion reagiert als CH-acide Komponente unter Wasserabspaltung mit dem aromatischen Aldehyd zu einem fulvenartigen Farbstoff folgender Struktur:



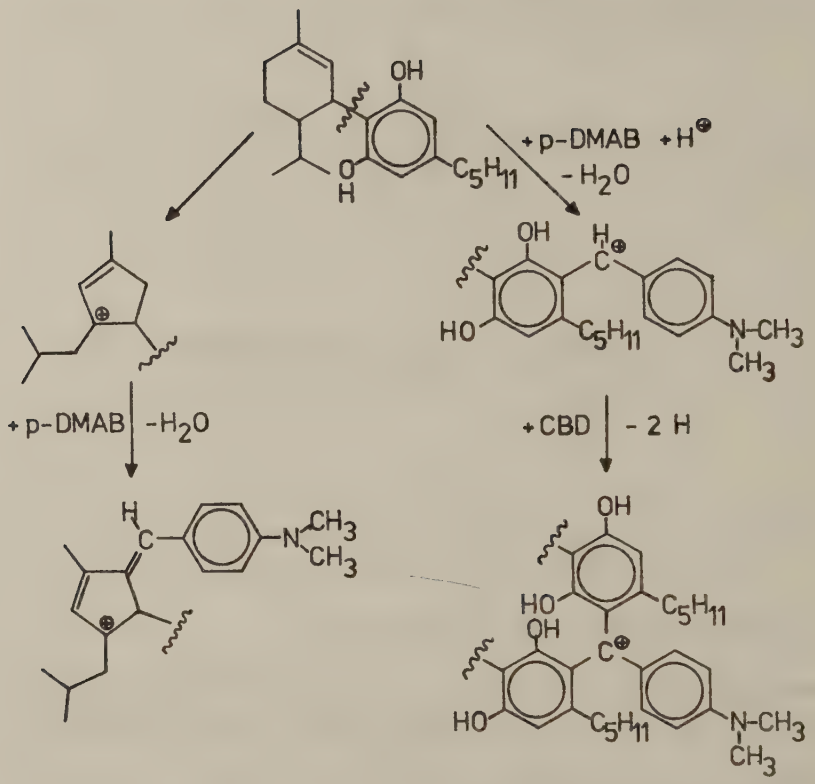
Ein analoges Reaktionsschema konnte für den Nachweis des Menthols (AUTERHOFF und BERTRAM[26]) sowie für den Nachweis des Meprobamats (AUTERHOFF und OSWALD[27]) bewiesen werden. In konz. Schwefelsäure bilden sich aus Menthol durch Protonierung und Wasserabspaltung zunächst Cyclohexylcarbenium-Ionen, die in Cyclohexane und Cyclohexenylcarbenium-Ionen disproportionieren. Die letzteren lagern sich, bedingt durch ihre geringere Stabilität, in Cyclopentenylcarbenium-Ionen um.



3.2 Untersuchungen zur Farbbildung

Wendet man diese Erkenntnisse auf die untersuchte GHAMRAWY-Reaktion an, so sind zwei Angriffspunkte am CBD denkbar:

- S_E-Reaktion am Aromaten unter Bildung eines Di- oder Triphenylmethanderivates;
- Reaktion am Terpenteil in Analogie zum Menthol unter Bildung von Cyclopentenylcarbenium-Ionen, anschließend Kondensation mit dem Aldehyd.



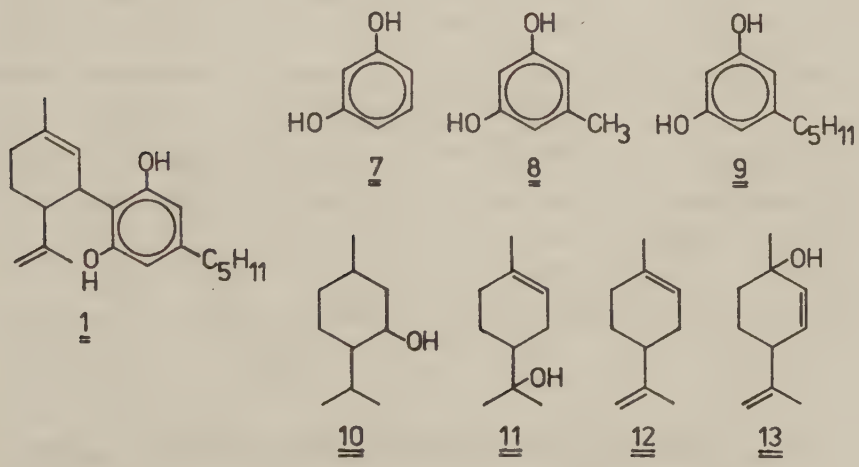
Diese Überlegungen führen zu folgenden drei Versuchsreihen:

- Es werden geeignete Vergleichssubstanzen ausgewählt, die jeweils nur eines der zwei reaktiven Strukturelemente besitzen. Die Elektronenspektren ihrer Reaktionsprodukte mit p-DMAB werden mit den aus Haschisch erhaltenen verglichen.
- Das Elektronenspektrum von Haschisch-Petroletherextrakt in konz. Schwefelsäure wird näher untersucht. Falls als Zwischenstufe der Farbreaktion Carbenium-Ionen auftreten würden, so müßten diese am Erscheinen eines neuen Maximums zu erkennen sein.

- Daneben sollte man erwarten, daß eine solchermaßen vorbehandelte Lösung - da sie ja die Vorstufe des Farbproduktes bereits enthält - nach Zusatz des p-DMAB den roten Farbstoff schneller hervorbringt.

3.2.1 Reaktion mit Vergleichssubstanzen

Als geeignete Modelle für den Angriff am Aromaten bieten sich Resorcin (7), Orcin (8) und Olivetol (9) an, für den Terpenteil Menthol (10), α-Terpineol (11), Limonen (12) und 2,8-p-Menthadien-1-ol (13).



Die Farbreaktion wurde mit den Vergleichssubstanzen unter den nach 2.1 optimierten Bedingungen durchgeführt und ergab (Tab.2), daß weder das Strukturelement "Phenol" noch das Strukturelement "Cyclohexan bzw. -en mit basischer (= protonierbarer) Funktion" für sich allein eine Färbung hervorbringt, deren Absorptionsmaximum annähernd mit dem der Cannabinoide übereinstimmt.

Tab.2: Absorptionsmaxima, $E^{1\%}_{1cm}$-Werte und Färbungen der Vergleichssubstanzen aus der Reaktion mit p-DMAB/Schwefelsäure 1%

	λ_{max}	$E^{1\%}_{1cm}$	Farbe der Reaktionslösung	Farbe der Meßlösung	Farbe nach dem Verdünnen in Wasser
Resorcin (7)	383	2350	rein gelb	blaßgelb	blaßgelb
Orcin (8)	391	1780	braunorange	gelb	blaßbraun
Olivetol (9)	403	590	olivgrün	blaßgelb	blaßgelb
Menthol (10)	460	381	braunrot	blaßbraun	violett
	498	330			
α-Terpineol (11)	460	235	braunrot	blaßbraun	violett
	495 sh				
Limonen (12)	460	188	braunrot	blaßbraun	violett
2,8-p-Menthadien-1-ol (13)	400 sh		braunrot	blaßbraun	violett
	445	259			
	475 sh				

3.2.2 Verhalten von Haschisch-Petroletherextrakt in konz. Schwefelsäure

Vorausgesetzt, daß in einer Reaktion zwischen Haschisch-Extrakt und konz. Schwefelsäure Carbenium-Ionen als Vorstufe der Farbreaktion entstehen sollten, so müßten sie an Absorptionen zwischen 314 und 320 nm (Cyclohexenylcarbenium-Ionen[28]) oder 275 und 300 nm (Cyclopentenylcarbenium-Ionen[28]) zu erkennen sein.
Dazu wurde die Veränderung der Elektronenspektren in Abhängigkeit von der Zeit untersucht. Bei einem Ansatz wurde die

Lösung (c= 0,1 mg/ml) bei Raumtemperatur, bei zwei weiteren im siedenden Wasserbad (c= 1 mg/ml und 10 mg/ml) gehalten. Bei allen Ansätzen zeigen sich zunächst folgende vier Maxima (Abb.10): 265, 293, 337 und 418 nm. Die Extinktion bei 418 nm nimmt zunächst stark zu, dann langsam wieder ab. Die Extinktion bei 265 nm nimmt wenig, aber stetig zu; die Absorption bei 337 nm nimmt zunächst geringfügig wieder zu, was jedoch - genau wie bei der Absorption bei 293 nm - darauf zurückzuführen ist, daß dieses Maximum als Schulter unter dem Anstieg des Maximums bei 265 nm verschwindet.

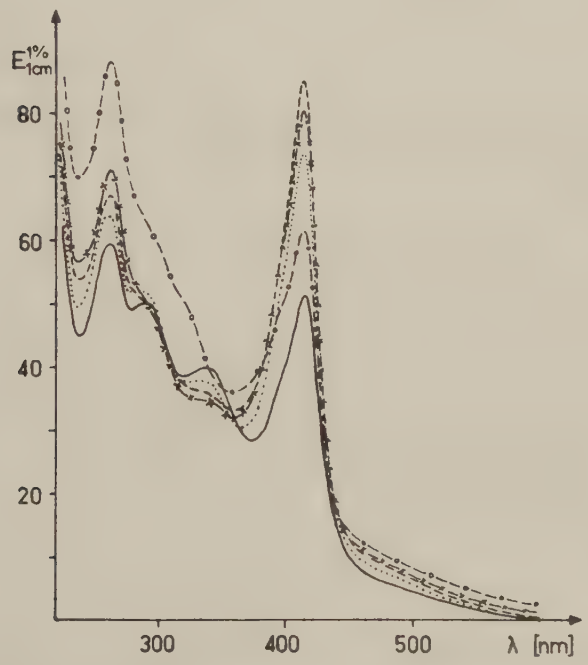


Abb.10: Reaktion von Haschisch-Petroletherextrakt in konz. Schwefelsäure, Reaktionstemperatur 100°C, Ansatzkonzentration 10 mg/ml

Probe		Reaktionszeit [min]
1	———	0
2	.....	1
3	-------	2
4	--x--x-	4

Die Form der Elektronenspektren sowie die Art ihrer Veränderungen ist bei allen Ansätzen gleich. Der Hauptunterschied liegt in der Zeit, die für das Erreichen z.B. des höchsten Absorptionswertes bei 418 nm notwendig ist. Diese beträgt bei 100°C (und 10 bzw. 1 mg/ml) 2 bis 3 min, bei Raumtemperatur (und 0,1 mg/ml) 16 bis 20 h.
Die Elektronenspektren geben keinen Hinweis auf die Entstehung von Cyclohexenyl- bzw. Cyclopentenylcarbenium-Ionen. Zwar ist bei 293 nm ein Maximum zu beobachten, dieses scheint sich jedoch nicht zu verändern. Da die Elektronenspektren zudem zeigen, daß mehrere absorbierende Substanzen nebeneinander vorliegen, sind weitergehende Aussagen aus diesen Spektren nicht zu treffen.

3.2.3 Unterschiede im Reaktionsverhalten zwischen säurevorbehandeltem und nicht vorbehandeltem Haschischextrakt

Um dem Gedanken nachzugehen, daß eines dieser Maxima zu einer Vorstufe des roten Farbstoffes gehören könnte, wurde folgender Versuch durchgeführt:
Es wurden jeweils eine 10 mg Haschisch entsprechende Menge Petroletherextrakt zur Trockne eingedampft und mit konz. Schwefelsäure zu 10 ml aufgefüllt. Probe 1 wurde 10 min bei Raumtemperatur stehengelassen, Probe 2 wurde 10 min im siedenden Wasserbad erhitzt. Dann wurden beide Proben mit einer Lösung von p-DMAB in konz. Schwefelsäure so aufgefüllt, daß eine Meßkonzentration von 1 mg Haschisch und 10 mg p-DMAB in 10 ml Schwefelsäure entstand, und die Veränderung der Absorptionen in Abhängigkeit von der Zeit bei Raumtemperatur beobachtet. Bei Probe 1 (Abb.11a) zeigt das erste Spektrum, aufgenommen 8 min nach Zugabe des Aldehyds, neben einem Maximum bei 418 nm nur andeutungsweise Schultern über 480 und 550 nm; die Lösung ist rein gelb. Mit Fortschreiten der Reaktion nimmt das Maximum bei 418 nm nur

wenig zu (von E= 0,4 auf E= 0,48 nach 18,5 h) und ist nach 44,5 h nur noch als Schulter sichtbar. Gleichzeitig wächst das Maximum bei 542 nm stark an (nach 44,5 h auf E= 0,75), wodurch sich die Farbe der Lösung nach Purpurrot ändert.

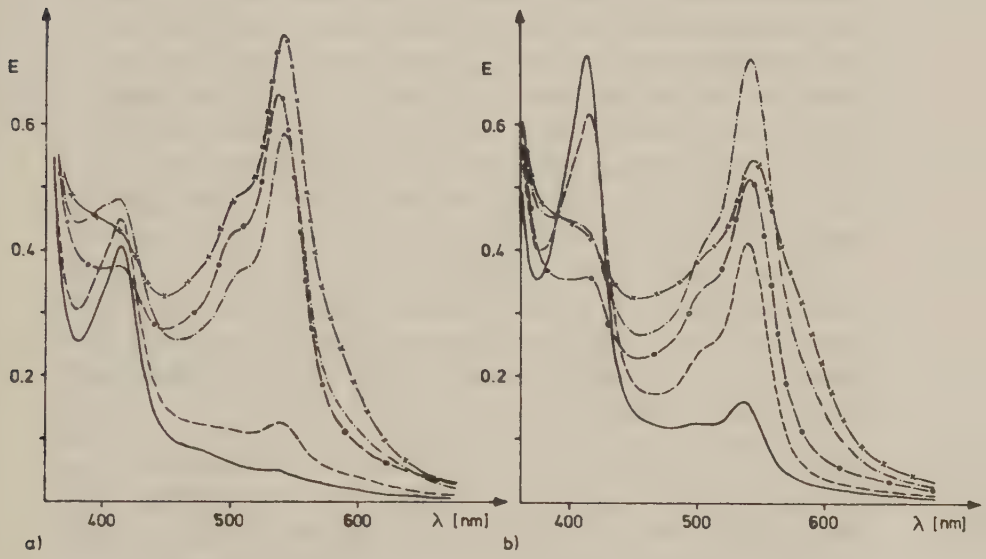


Abb.11a,b: Reaktion von Haschisch-Petroletherextrakt mit p-DMAB/Schwefelsäure
Reaktions- = Meßkonzentration: 0,1 mg Haschisch + 1 mg p-DMAB in 1 ml konz. Schwefelsäure

a) ohne Erhitzen

		Reaktionszeit
1	———	8 min
2	-------	1,5 h
3	-.-.-.-	18,5 h
4	-x-x-x-	44,5 h
5	--o--o--	nach 1 h

b) Haschischextrakt 10 min bei 100°C erhitzt

		Reaktionszeit
1	———	15 min
2	-------	1,5 h
3	-.-.-.-	18,5 h
4	-x-x-x-	44,5 h

Reaktionszeit zusätzlich jeweils 5 min bei 100°C erhitzt

Im Gegensatz dazu zeigt in der zuvor erhitzten Lösung (Probe 2, Abb.11b) das Maximum bei 418 nm bereits bei der 1.Messung nach 15 min seinen höchsten Wert von 0,72, der mit Fortschreiten der Reaktion nur noch abnimmt. Gleichzeitig ist auch schon das Maximum bei 542 nm mit einer Extinktion von 0,16 zu sehen. Dieses nimmt relativ schnell weiter zu und hat nach 18,5 h einen Wert von 0,7 erreicht. Die letzte Messung nach 44,5 h zeigt, daß sich der rote Farbstoff zu zersetzen beginnt, da die Extinktion abgenommen und das Spektrum seine Gestalt verändert hat.
Um den Einfluß einer zusätzlichen Temperaturerhöhung zu beobachten, wurde nach 1 h jeweils eine Probe der Reaktionslösungen entnommen, 5 min im siedenden Wasserbar erhitzt, in kaltem Wasser rasch abgekühlt und gemessen. Durch diese Behandlung nimmt in beiden Ansätzen das Maximum bei 542 nm stark zu (in der zuvor bei Raumtemperatur aufbewahrten Lösung auf 0,65, in der erhitzten auf 0,52), während das bei 418 nm abnimmt.

Wie der Versuch zeigt, hat das Erhitzen von Haschisch-Petroletherextrakt mit Schwefelsäure vor Aldehydzugabe einen Einfluß auf die Farbbildung. Das Maximum bei 542 nm erscheint wesentlich schneller als ohne vorheriges Erhitzen. Die maximale Extinktion wird jedoch ohne Erhitzen höher. Auch wenn die Lösungen zur Beschleunigung der Farbbildung zusammen mit dem Aldehyd erhitzt werden, gilt, daß die nur einfach erhitzte Lösung eine höhere Farbintensität hervorbringt als die zweimal erhitzte.
Da in der erhitzten Lösung das Maximum bei 418 nm besonders ausgeprägt ist und in dem Maße abnimmt, wie die Extinktion bei 542 nm zunimmt, liegt die Vermutung nahe, daß diese Absorption zu der gesuchten Vorstufe der Farbreaktion gehört.

Vergleicht man die Ergebnisse dieser Versuche mit den eingangs erläuterten Überlegungen, so lassen sich zusammenfassend folgende Aussagen treffen:

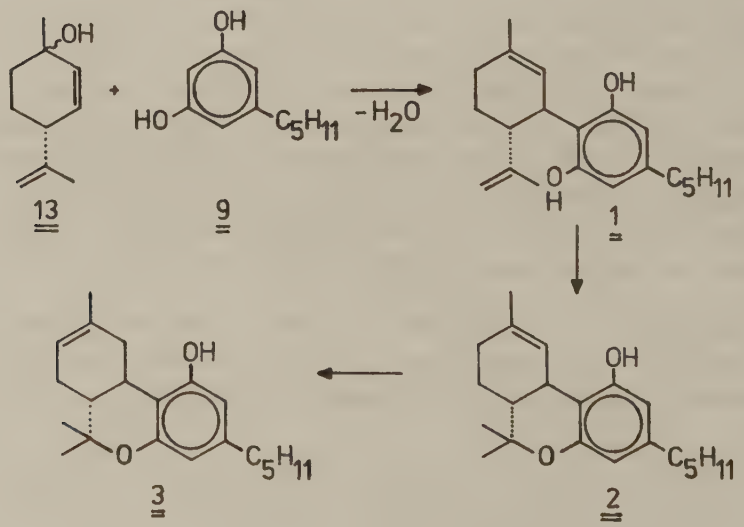
- Weder der Phenolteil noch der Cyclohexenteil für sich allein bringen eine dem CBD entsprechende Färbung mit p-DMAB hervor. Voraussetzung für die Farbreaktion ist also ein aus beiden Komponenten zusammengesetztes Molekül.
- In dem Bereich, wo einfache Cyclopentenylcarbenium-Ionen UV-Absorptionen besitzen, ist im Haschisch-Extrakt ein Absorptionsmaximum bei 293 nm vorhanden. Dieses nimmt aber mit der Zeit (abhängig von der Temperatur) ab und nicht zu, wie man es von einem Zwischenprodukt erwarten sollte. Daher ist es unwahrscheinlich, daß Cyclopentenylcarbenium-Ionen an der Reaktion beteiligt sind.
- Auffallend ist dagegen ein ausgeprägtes Absorptionsmaximum bei 418 nm, das sich völlig im Sinne einer Vorstufe verhält: Es nimmt zu mit Zeit und Temperatur - ebenso wie der rote Farbstoff; es nimmt in dem Maße ab, wie nach Zugabe von p-DMAB der rote Farbstoff entsteht; der rote Farbstoff wird schneller gebildet, wenn in der Ausgangslösung die Konzentration der gelben Substanz höher ist. Dem muß die Tatsache nicht widersprechen, daß bei zweimaligem Erhitzen eine geringere Konzentration des roten Farbproduktes entsteht, da sehr leicht möglich ist, daß die postulierte Vorstufe bei erhöhter Temperatur neben der Reaktion mit p-DMAB zu dem bei 542 nm absorbierenden Farbstoff auch noch andere Folgereaktionen eingehen kann.

4. Untersuchung der GHAMRAWY-Reaktion an Cannabidiol

4.1 Darstellung von Cannabidiol

Um nähere Kenntnisse über die Natur der Farbstoffe, die in der GHAMRAWY-Reaktion entstehen, zu erlangen, erschien es unter den gegebenen Voraussetzungen notwendig, die weitere Aufklärung des Reaktionsprinzips mit Reinsubstanzen durchzuführen. Da die Untersuchungen mit dc-getrennten Cannabinoiden gezeigt hatten (vgl. 2.3), daß für die Farbreaktion nach GHAMRAWY in erster Linie CBD und THC verantwortlich zu machen sind, wurden diese Substanzen nach der Methode von RAZDAN[29] dargestellt.

2,8-p-Menthadien-1-ol (13) kondensiert mit Olivetol (9) nach Art einer FRIEDEL-CRAFTS-Alkylierung unter Katalyse von Bortrifluorid-Etherat zum CBD (1); dieses cyclisiert unter den Reaktionsbedingungen zum Δ^1-THC (2), das sich bei Fortschreiten der Reaktion zum $\Delta^{1(6)}$-THC (3) isomerisieren kann.



In der vorliegenden Arbeit wird für die Cannabinoide die Terpen-Numerierung verwendet. Diese entspricht nicht den IUPAC-Regeln, hat aber den Vorteil, daß beim Wechsel von einem zum anderen Cannabinoid bzw. beim Vergleich mit (später synthetisierten) Modellsubstanzen, die ebenfalls von Terpenen abgeleitet sind, jedes C-Atom seine Ziffer behält.

Das Reaktionsprodukt, das neben 1, 2 und 3 noch eine Reihe isomerer Substanzen enthält, muß durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Petrolether-Ether-Gemisch getrennt werden. Aus verschiedenen Syntheseansätzen erhielt man stets Gemische, die neben Δ^1-THC noch größere Mengen CBD oder $\Delta^{1(6)}$-THC oder beides enthielten. Da sich die Trennung der doppelbindungsisomeren Tetrahydrocannabinole als besonders schwierig erwies und nur mit geringen Ausbeuten gelang, wurden die weiteren Untersuchungen mit CBD durchgeführt. Diese Verbindung hat zudem den Vorzug, über Monate hinweg stabil zu sein, wenn man sie in Petroletherlösung im Kühlschrank aufbewahrt.
Zur Kontrolle von Identität und Reinheit dienten DC, IR-, MS- und ^{13}C-NMR-Spektren.

4.2 ^{13}C-NMR-spektroskopische Untersuchung

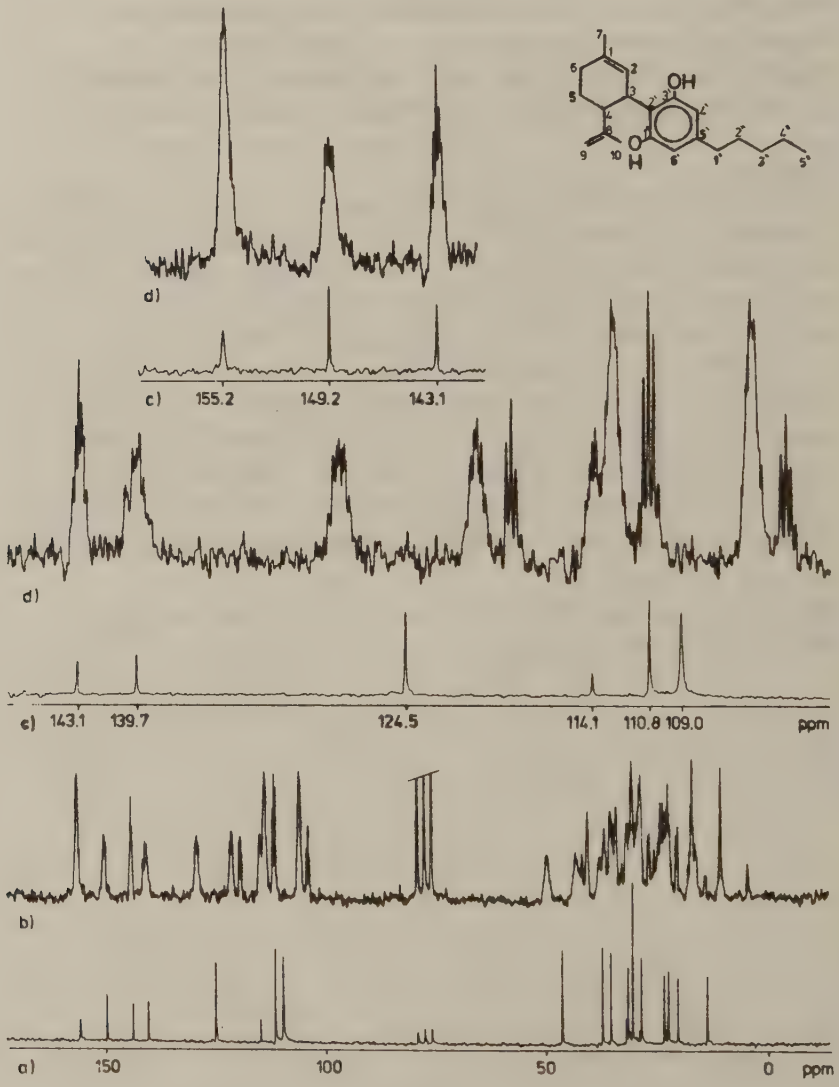


Abb.12a-d: ^{13}C-$\{^1H\}$-NMR-Spektrum von CBD (1) in $CDCl_3$

a) breitbandentkoppeltes Spektrum

b) alternierend gepulstes Doppelresonanzspektrum

c) gespreizter Aromatenteilbereich von a)

d) gespreizter Aromatenteilbereich von b)

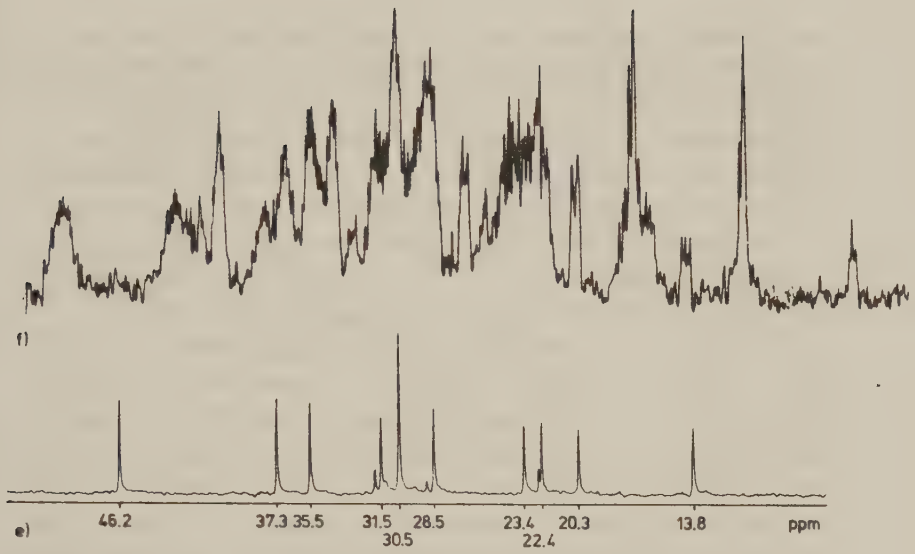


Abb.12e,f: e) gespreizter Aliphatenteilbereich von a)
f) gespreizter Aliphatenteilbereich von b)

Als Zuordnunghilfe für die ^{13}C-Resonanzen des CBD dienen die bereits bekannten Spektren von Limonen[30] und Δ^1-THC[31]. Inkrementberechnungen sind in diesem Fall weniger geeignet, da in den üblichen Nachschlagewerken[32,33] die gesuchten Substituenten nicht verzeichnet sind und daher durch vergleichbare (z.B. Ethyl- statt n-Pentyl-Seitenkette) ersetzt werden müssen. Außerdem läßt die gegenseitige Beeinflussung von vier Substituenten relativ große Abweichungen von den berechneten Werten erwarten. Dennoch ergeben sich bei der Zuordnung des Signals bei 155.2 ppm zu C-1',3' und des Signals bei 109.0 ppm zu C-4',6', die aufgrund der doppelten Intensität und direkten Kopplungen sicher zu treffen sind, nur sehr geringe Abweichungen zu den näherungsweise berechneten Werten von 154.4 und 107.7 ppm. Auch C-5' unterscheidet sich mit 143.1 ppm nur wenig vom berechneten Wert (144.9 ppm) und stimmt gut mit dem analogen Wert (141.4 ppm) aus Δ^1-THC überein. C-2 und C-9 sind durch ihre Dublett- (Fernmultiplett durch Kopplungen mit 6-H_2, 7-H_3 und 3-H)

bzw. Triplett-Aufspaltung (Fernquintett durch Kopplung mit 10-H_3 und 4-H) gekennzeichnet und damit sicher zuzuordnen.
Der Vergleich mit Limonen (149.9 ppm) verweist auf die Zugehörigkeit des Signals bei 149.2 ppm zu C-8, während C-1 im CBD mit 139.7 ppm bei tieferem Feld in Resonanz tritt als in Limonen (133.5 ppm) oder Δ^1-THC (131.9 ppm). Durch Kopplungen mit 6-H_2, 7-H_3, 2-H und 3-H zeigt es jedoch ein charakteristisches breites Fernmultiplett.
Das verbleibende Singulett bei 114.1 ppm gehört somit zu C-2'. Im Aliphatenteil treten die C-Atome der n-Pentyl-Seitenkette bei annähernd denselben Feldstärken in Resonanz wie in den von WENKERT[31] untersuchten THC-Isomeren und lassen sich so sicher zuordnen.
Von den verbleibenden Resonanzen erscheint das Dublett-Signal bei 46.2 ppm als sehr breites, stark aufgespaltenes Fernmultiplett, während das bei 37.3 ppm auftretende Dublett kleinere und weniger Fernkopplungen aufweist. Da C-4 vicinal mit den endständigen Protonen der Doppelbindung 9-H_{cis} und 9-H_{trans} mit unterschiedlichen, aber relativ großen Kopplungskonstanten koppelt ($\leq$ 12 Hz, $\leq$ 18 Hz) sowie weiterhin mit 10-H_3 und geminal mit 5-H_2 und 3-H, gehört das Signal bei 46.2 ppm zu C-4, was der Verschiebungsvergleich mit Δ^1-THC bestätigt. C-3 zeigt dagegen Fernkopplungen nur mit 2-H, 4-H und 5-H, so daß ihm das Dublett mit der kleineren Signalbreite bei 37.3 ppm zugeordnet werden muß. Durch Vergleich mit Limonen ergibt sich die Zugehörigkeit von C-6 zum Triplett bei 30.5 und von C-5 zu dem bei 28.5 ppm. Auf dieselbe Weise erhält man einen Hinweis auf die Zuordnung der verbleibenden zwei Quartett-Signale, der durch die unterschiedlichen Kopplungsmuster voll bestätigt wird:
C-7 zeigt eine Dublett-Aufspaltung von etwa 7 Hz durch vicinale transoide Kopplung mit 2-H, die von Ferntripletts mit $\lesssim$ 2 Hz durch Kopplung mit 6-H_2 überlagert werden, während C-10 vicinal mit 9-H_{cis}, 9-H_{trans} und 4-H zu einem relativ breiten Dreifach-Dublett koppelt, das hier - bedingt durch Überlagerungen - nur undeutlich zu erkennen ist. Somit gehört das Signal bei 23.4 ppm zu C-7, das bei 20.3 ppm zu C-10.

Tab.3: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen von CBD (1) in $CDCl_3$

ppm	Multiplizität	J_{C-H} [Hz]	Zuordnung
155.2	S_m		C-1',3'
(doppelte Intensität)			
149.2	S_m		C-8
143.1	S_m		C-5'
139.7	S_m (breit)		C-1
124.5	D_m	152 mit 2-H	C-2
114.1	S_m		C-2'
110.8	T	152 mit 9-H_2	C-9
	qui	5 mit 4-H und 10-H_3	
109.0	D_m	152 mit 4'-H bzw. 6'-H	C-4',6'
(doppelte Intensität)			
46.2	D_m	125 mit 4-H	C-4
37.3	D_m	125 mit 3-H	C-3
35.5	T_m	125 mit 1"-H_2	C-1"
31.5	T_m	125 mit 2"-H_2	C-2"
30.5	T_m	122 mit 3"-H_2	C-3"
(doppelte Intensität)		122 mit 6-H_2	C-6
28.5	T_m	125 mit 5-H_2	C-5
23.4	Q_m	122 mit 7-H_3	C-7
22.4	T_m	125 mit 4"-H_2	C-4"
20.3	Q_m	125 mit 10-H_3	C-10
13.8	Q	122 mit 5"-H_3	C-5"
	t	4 mit 4"-H_2	

4.3 Elektronenspektroskopische Untersuchung

Bei der Durchführung der GHAMRAWY-Reaktion unter verschiedenen Konzentrationsverhältnissen zeigt CBD Elektronenspektren (Abb.13), die weitgehend den mit Haschisch-Extrakt erhaltenen gleichen. Eine geringere CBD-Konzentration (wie 10^{-4} mol/l, das sind etwa 3 µg in 0,1 ml Reaktionslösung, Abb.13-3) oder ein geringerer Überschuß an Reagens (Abb.13-4) bringen eine rein purpurrote Lösung hervor, deren Elektronenspektrum die charakteristische Form aufweist. Eine höhere CBD-Konzentration bewirkt, daß die Kurve diese charakteristische Form verliert, und die Farbstofflösung selbst einen braunroten Ton annimmt.

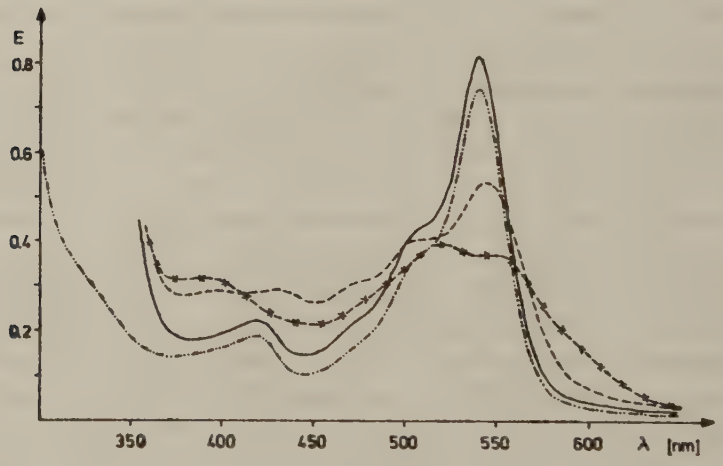


Abb.13: Elektronenspektren aus der Reaktion von CBD mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure (Meßkonzentration bezogen auf CBD $2 \cdot 10^{-5}$ mol/l).

Probe	Konzentration in der Reaktionslösung [mol/l] CBD : p-DMAB	Verhältnis CBD : p-DMAB	Reaktionszeit min bei 100°	λ_{max} nm
1 x--x-	10^{-2} : 1	1 : 100	1	522
2 -----	10^{-3} : 10^{-1}	1 : 100	1	545
3 ———	10^{-4} : 10^{-2}	1 : 100	5	540
4 -·-·-·	10^{-3} : 10^{-2}	1 : 10	5	540

Nicht klar ist, ob dies die Folge einer Zersetzung ursprünglich gebildeten Farbstoffs ist oder ob sich andersartige farbige Verbindungen gebildet haben.
Die höchste Absorption bei 540 nm beträgt 0,81 für eine $2 \cdot 10^{-5}$ molare Lösung. Dies bedeutet, daß der ε-Wert des entstandenen Farbproduktes größer als 40 500 l/mol · cm sein muß ($E^{1\%}_{1cm}$: 1285; log ε = 4.61).

Das Elektronenspektrum von reinem CBD in konz. Schwefelsäure zeigt große Ähnlichkeit mit dem des gesamten Haschisch-Extraktes (Abb.14).

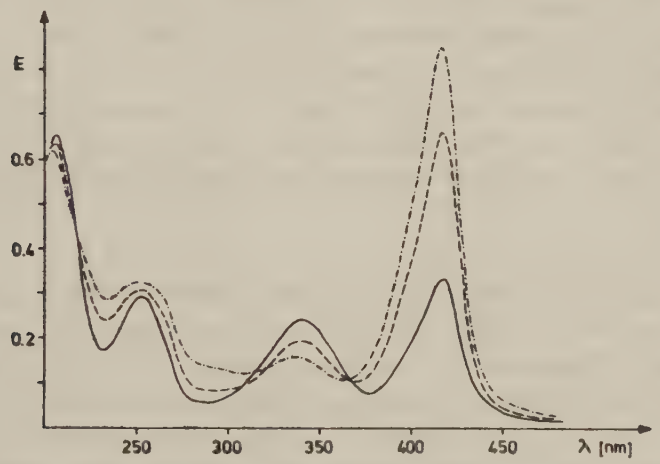


Abb.14: Elektronenspektren von CBD in konz. Schwefelsäure
$2{,}5 \cdot 10^{-5}$ mol/l
Veränderungen der Absorptionen bei Raumtemperatur

		E_{253}	E_{340}	E_{418}
10 min	———	0,29	0,24	0,33
16 h	------	0,31	0,20	0,66
45 h	-·-·-·	0,32	0,16	0,85

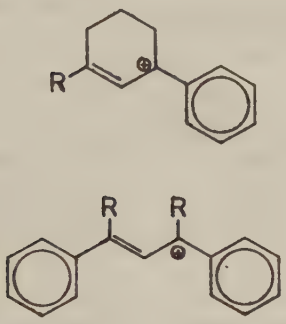
Die Absorptionsmaxima bei 253, 340 und 418 nm sind auch dort vorhanden, erscheinen jedoch in unterschiedlichen relativen Intensitäten. Die Maxima im UV-Bereich sind geringfügig verschoben (265 und 337 nm im Gesamt-Extrakt), was wohl auf eine Überlappung mit zusätzlichen Absorptionen im Extrakt zurückzuführen ist. Besonders bemerkenswert erscheint, daß die im Petrolether-Auszug vorhandene Absorption bei 293 nm im Spektrum des CBD fehlt; dies schließt mit Sicherheit aus, daß Cyclopentenylcarbenium-Ionen als Zwischenstufe an der Farbreaktion beteiligt sind.

Dagegen besitzt auch die Lösung von CBD in konz. Schwefelsäure das ausgeprägte Absorptionsmaximum bei 418 nm, das schon vom Haschisch-Petroletherextrakt bekannt ist. Es zeigt hier exakt dasselbe Verhalten wie in der Lösung des Haschisch-Extraktes: Es nimmt mit der Zeit zu, ändert sich bei Raumtemperatur und in kleiner Konzentration (10^{-4} bis 10^{-5} mol/l) über Tage hinweg nicht, verschwindet aber völlig, wenn nach p-DMAB-Zusatz der rote Farbstoff gebildet wird.

Dies legt den Schluß nahe, daß sich aus CBD in konz. Schwefelsäure eine Substanz mit Absorptionsmaximum 418 nm bildet, die eine Vorstufe des roten Farbstoffes darstellt. Hervorstechende Charakteristika dieser Substanz sind ihr scharfes Extinktionsmaximum bei 418 nm mit einem sehr hohen ε-Wert von 40 500, ihre Stabilität in konz. Schwefelsäure bei Raumtemperatur in niedriger Konzentration sowie ihre Instabilität unter den gleichen Bedingungen in verdünnter Säure.

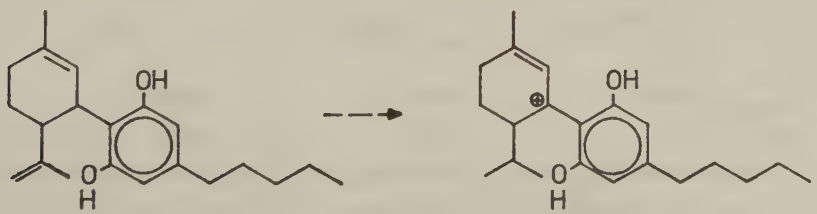
Daher kann man mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß es sich bei der entstehenden gelben Substanz um ein Carbenium-Ion handelt. Dessen Stabilität und die Lage seines Absorptionsmaximums ermöglichen es, den Kreis der in Frage kommenden Carbenium-Ionen auf die folgenden drei Gruppen einzugrenzen:

1) Allyl-Kationen
   a) cyclische, deren Enylsystem an einem Ende mit einem Phenylrest substituiert ist
   b) offenkettige, deren Enylsystem an beiden Enden mit je einem Phenylrest substituiert ist
2) Dienyl-Kationen
   eventuell auch cyclische, also Phenonium-Ionen
3) Diphenyl-Kationen



1 a/b) 2) 3)

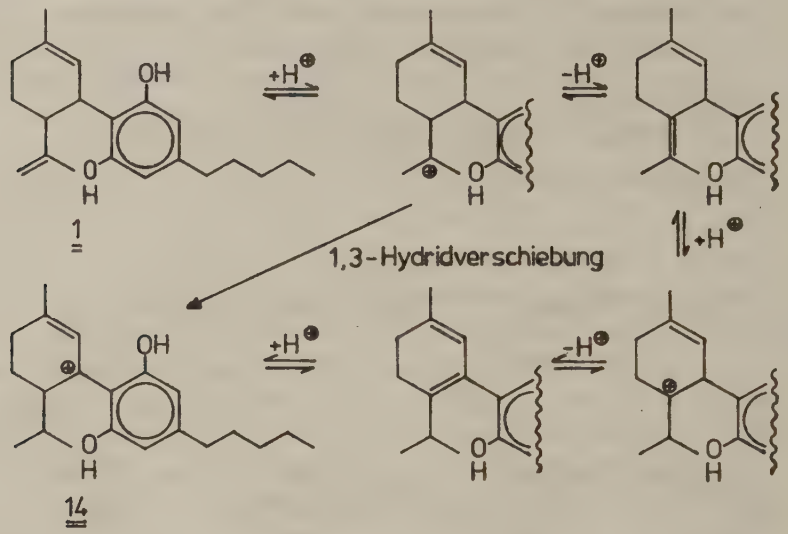
Betrachtet man das Ausgangsmolekül CBD in seiner Gesamtstruktur als mögliche Vorstufe für ein Carbenium-Ion, so erscheint am naheliegendsten, daß als Endprodukt der Schwefelsäurebehandlung ein Allylcarbenium-Ion folgender Struktur entsteht:



1 14

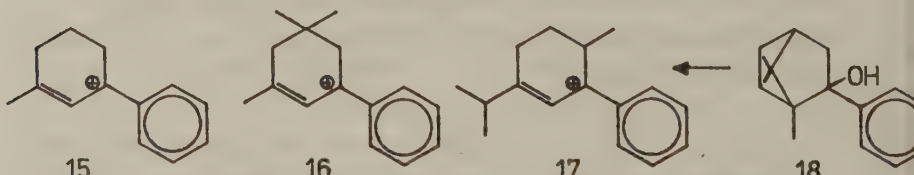
Da dieses als protoniertes konjugiertes Dien aufzufassen ist, muß für seine Bildung lediglich die Verschiebung der Doppelbindung 8-9 in Stellung 3-4 postuliert werden.

Dies könnte durch hintereinandergeschaltete Protonierungs-Deprotonierungsschritte erfolgen, ist aber auch durch inter- oder intramolekulare Hydridverschiebungen denkbar.



1 = 14

Der Wert des Absorptionsmaximums stimmt sehr gut mit den Angaben für andere phenylsubstituierte cyclische Allylcarbenium-Ionen überein[28,34], insbesondere mit dem von DENO und HOUSER[35] beschriebenen 1-Isopropyl-4-methyl-3-phenylcyclohexenylcarbenium-Ion (17) das in einer Ringöffnungsreaktion aus 2-Phenylborneol (18) entsteht.



15 16 17 18

	15	16	17
λ_{max}	406 nm	411 nm	415 nm
log ε	4.7	4.65	

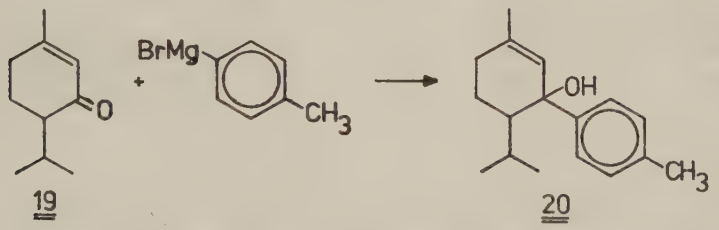
Nach DENO[34] bilden sich derartige cyclische, an den Enden des Allylsystems vollständig alkylierte Enylcarbenium-Ionen quantitativ aus ihren Vorläufersubstanzen (dem entsprechenden Dien oder Alkohol), ohne sich weiter umzusetzen; sie sind bei Raumtemperatur in 96proz. Schwefelsäure völlig stabil.

5. 3-p-Tolyl-1-p-menthen-3-ol und 3-Phenyl-1-p-menthen-3-ol als Modellsubstanzen

5.1 Synthesen

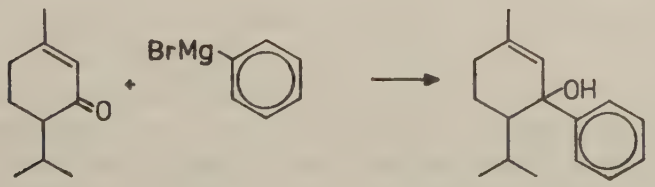
Nach den vorangegangenen Überlegungen zur Natur der möglichen Zwischenstufe erschien es sinnvoll, eine Modellsubstanz zu synthetisieren, die in konz. Schwefelsäure ein entsprechendes Carbenium-Ion bildet, um deren spektroskopische Daten und ihr Verhalten gegen p-DMAB in konz. Schwefelsäure mit CBD vergleichen zu können.

Als vereinfachtes Modell für CBD wurde 3-p-Tolyl-1-menthen-3-ol (20) synthetisiert, von dem angenommen werden kann, daß es als α,β-ungesättigter, aromatisch substituierter tertiärer Alkohol ein stabiles Allylkation bildet.
Die Synthese von 20 wurde ausgehend von Piperiton (19) und p-Bromtoluol nach der üblichen GRIGNARD-Methode durchgeführt.



19 20

Da sich mit dieser Verbindung eine relativ große Abweichung des Absorptionsmaximums in konz. Schwefelsäure sowohl von der Absorption des CBD als auch von den Literaturwerten ergab, wurde noch das entsprechende 3-Phenyl-1-p-menthen-3-ol (21) synthetisiert.



19 21

5.2 IR-, MS- und ^{13}C-NMR-Spektren

Beide Alkohole, farblose, viskose Öle bei Raumtemperatur, mußten durch SC aus den Syntheseprodukten isoliert werden. Die IR-Spektren (Abbn.15 und 16) zeigen die enge Verwandtschaft beider Verbindungen. Unterschiede findet man nur in den aromatischen Ober- und Kombinationsschwingungen zwischen 2000 und 1600 cm^{-1} und vor allem im Bereich der out-of-plane-Schwingungen der aromatischen C-H-Bindungen. Das Tolylderivat zeigt die typische Deformationsschwingung von 2 Nachbar-H-Atomen bei 820 cm^{-1}, während das Phenylderivat zwei Banden bei 760 und 700 cm^{-1} aufweist, die von 5 Nachbar-H-Atomen herrühren.

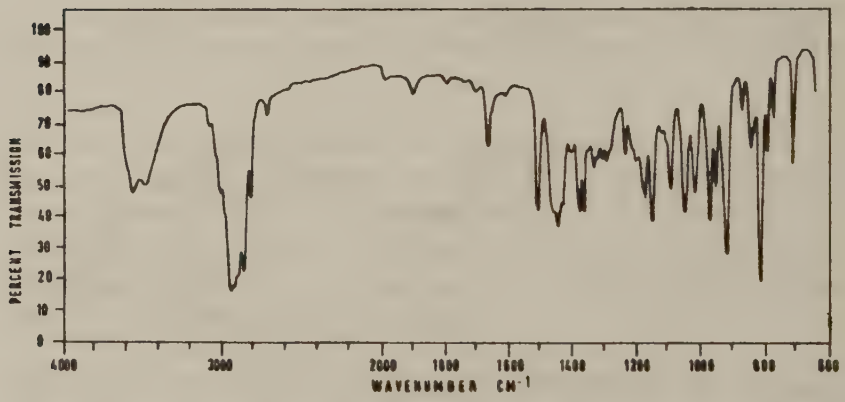


Abb.15: IR-Spektrum von 3-p-Tolyl-1-p-menthen-3-ol (20)

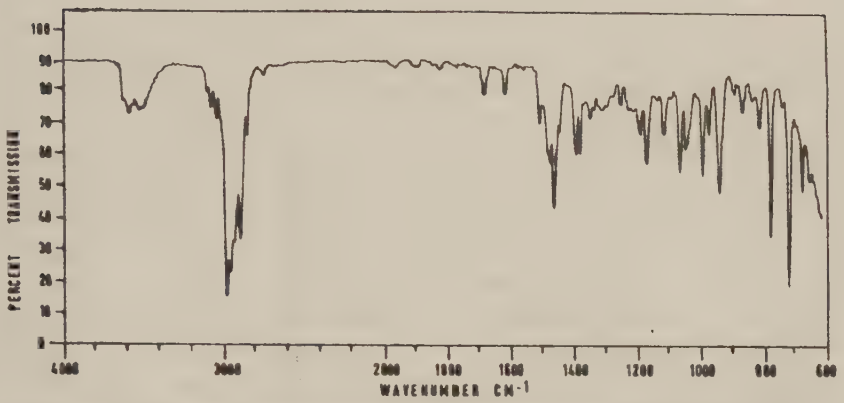


Abb.16: IR-Spektrum von 3-Phenyl-1-p-menthen-3-ol (21)

Absorptionsfrequenzen [cm^{-1}]		Zuordnung
20	21	
3650 - 3400	3650 - 3400	ν O-H
3080 - 3020	3100 - 3020	ν assym und symm =C-H
2980 - 2840	2980 - 2840	ν assym und symm -C-H
2000 - 1600	2000 - 1600	arom.Ober- und Komb.schw.
1670	1670	ν C=C isoliert
	1605	ν C=C aromat.
1510	1495	ν C=C aromat.
1480 - 1430	1480 - 1430	δ -C-H
1380 und 1365	1380 und 1365	δ sym $>C<^{CH_3}_{CH_3}$
820		γ =C-H 1,4-subst.Benzol
	760 und 705	γ =C-H monosubst.Benzol

Auch die Massenspektren zeigen die Homologie der beiden Substanzen (Abb.17 und 18, Tab.4 und 5).
Bevorzugte Zerfallsreaktion ist in beiden Molekülen eine Retro-DIELS-ALDER-Spaltung (welche den jeweiligen Basispeak liefert) mit anschließender Eliminierung eines Methylradikals. Die Folgespaltung ist durch Auftreten des zugehörigen metastabilen Peaks bewiesen.

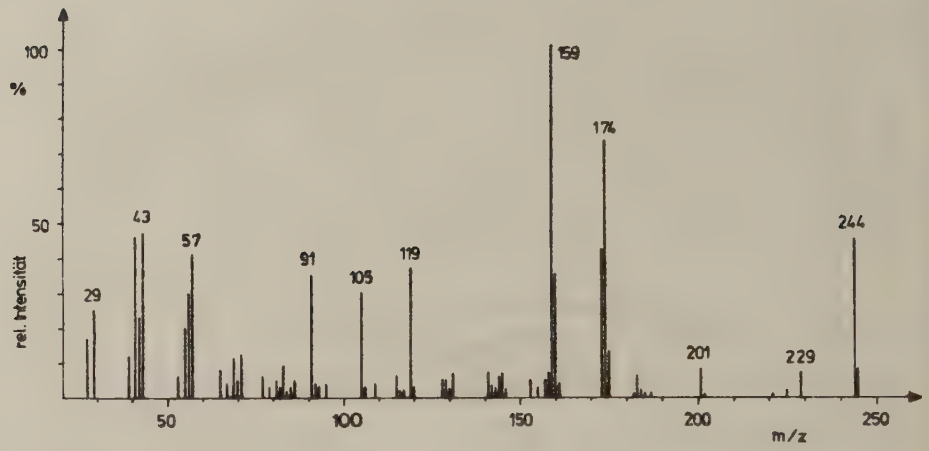


Abb.17: Massenspektrum von 20

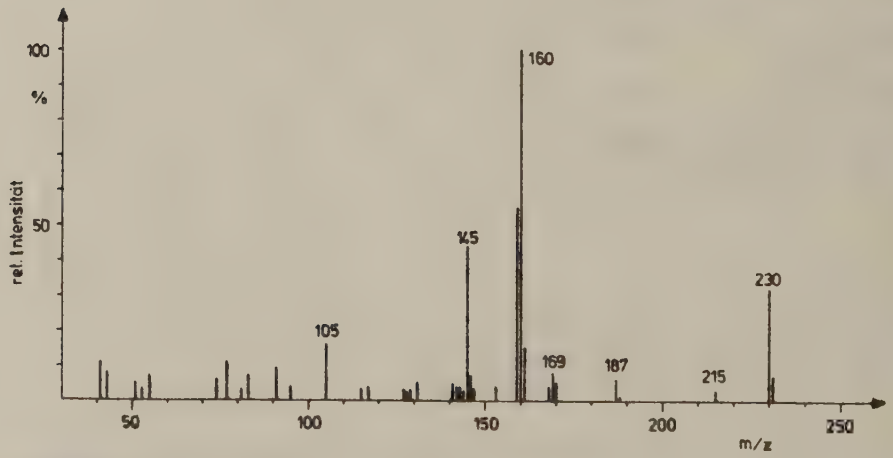


Abb.18: Massenspektrum von 21

Tab.4: Zuordnung der Fragment-Ionen aus 3-p-Tolyl-1-menthen-3-ol(20)

m/e	%	M - x	Zuordnung
245	8	M + 1	
244	45	$M^{+\cdot}$	Molekül-Ion
229	7	M - 15	- Methylradikal (- $CH_3^{\cdot}$)
201	8	M - 43	- Propylradikal (- $C_3H_7^{\cdot}$)
183	6	M - 61(18+43)	- Wasser, - Propylradikal
175	13	M - 69	Retro-Diels-Alder-Reaktion aus M + 1
174	73	M - 70	RDA-Reaktion (- C_5H_{10})
173	42	M - 71	- Pentylradikal (- $C_5H_{10}^{\cdot}$)
160	35	M - 84	
159	100	M - 85(70+15)	- Methylradikal nach RDA-Reaktion
158	7	M - 86	
119	37		$C_8H_7O^+$
105	30		Methyltropylium-Ion $C_8H_9^+$
91	35		Tropylium-Ion $C_7H_7^+$
145-146			metastabiler Peak aus der

Zerfallsreaktion $174^{+\cdot} \longrightarrow 159^{+} + 15^{\cdot}$ m* = 145.3

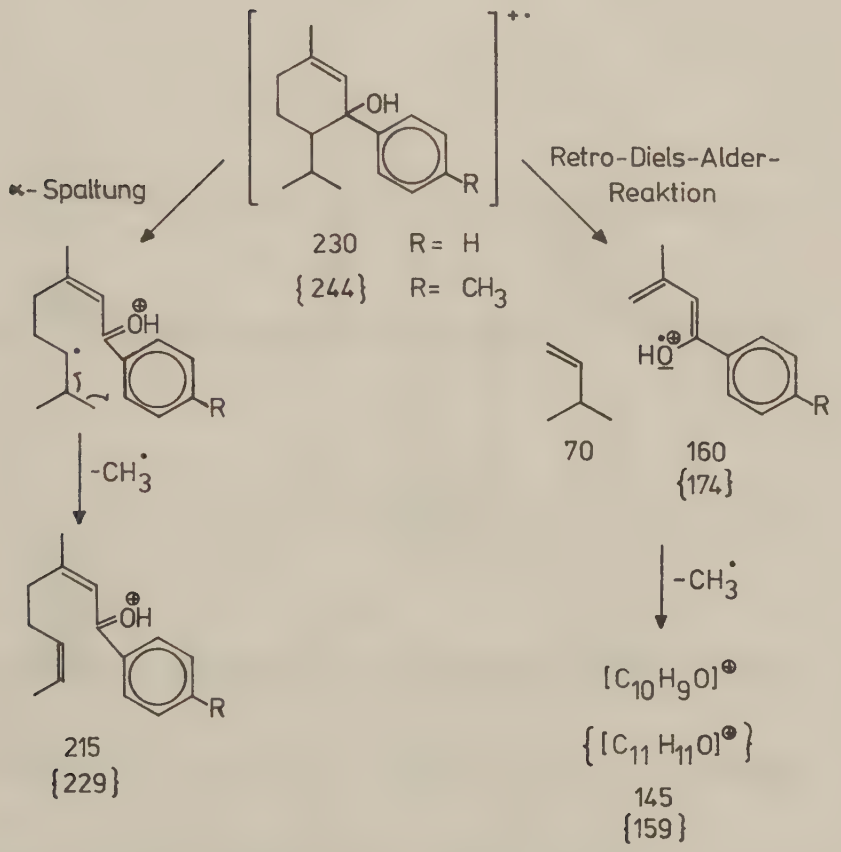
Tab.5: Zuordnung der Fragment-Ionen aus 3-Phenyl-1-menthen-3-ol(21)

m/e	%	M - x	Zuordnung
231	7	M + 1	
230	32	$M^{+\cdot}$	Molekül-Ion
215	3	M - 15	- Methylradikal (- $CH_3^{\cdot}$)
188	2.5	M - 42	- Propen (- C_3H_6)
187	6	M - 43	- Propylradikal (- $C_3H_7^{\cdot}$)
170	5	M - 60	
169	8	M - 61(18+43)	- Wasser, - Propylradikal
168	4	M - 62	
161	15	M - 69	RDA-Reaktion aus M + 1
160	100	M - 70	- Penten durch Retro-Diels-Alder -Reaktion (- C_5H_{10})
159	55	M - 71	- Pentylradikal (- $C_5H_{10}^{\cdot}$)
146	7	M - 84	
145	44	M - 85(70+15)	- Methylradikal nach RDA-Rkt.
105	16		$C_7H_5O^+$
91	10		Tropylium-Ion ($C_7H_7^+$)
77	11		Phenyl-Kation ($C_6H_5^+$)
131-132			metastabiler Peak aus der Zerfallsreaktion $160^{+\cdot} \longrightarrow 145^+ + 15^{\cdot}$ (Abspaltung eines Methylradikals nach RDA-Reaktion) m* = 131.4

Zerfallsschema von

3-Phenyl-1-menthen-3-ol (21)

3-p-Tolyl-1-menthen-3-ol (20) {}



Das breitbandentkoppelte ^{13}C-NMR-Spektrum des 3-p-Tolyl-1-p-menthen-3-ol(20) zeigt wie erwartet für 17 C-Atome 15 Signale, wobei 6 Resonanzen - davon 2 mit doppelter Intensität - im aromatischen, 9 im aliphatischen Verschiebungsbereich liegen.

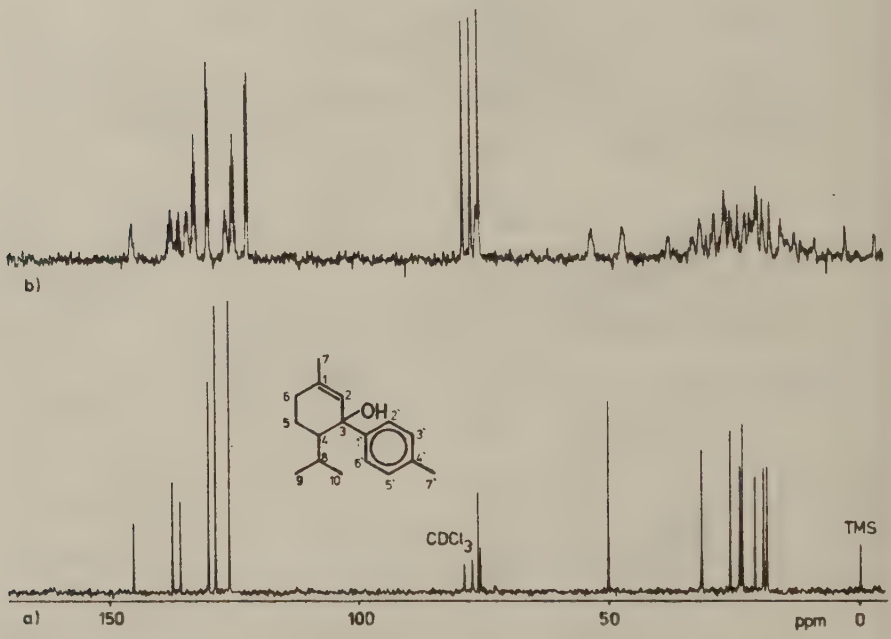


Abb.19a,b: ^{13}C-$\{^1H\}$-NMR-Spektren von 3-p-Tolyl-1-p-menthen-3-ol (20) in $CDCl_3$

a) breitbandentkoppeltes Spektrum

b) alternierend gepulstes Doppelresonanzspektrum

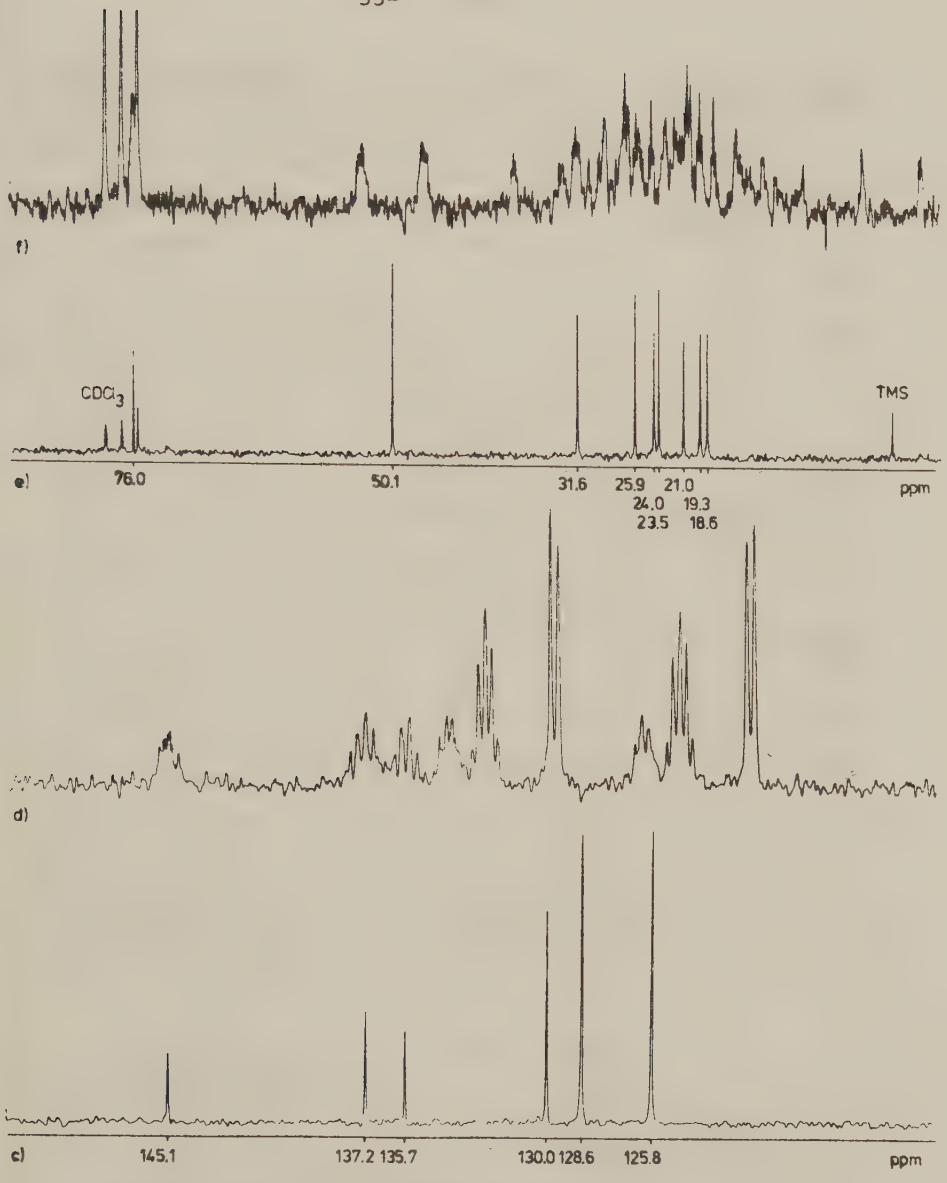


Abb.19c-f: c) gespreizter Aromatenteilbereich von a)
d) gespreizter Aromatenteilbereich von b)
e) gespreizter Aliphatenteilbereich von a)
f) gespreizter Aliphatenteilbereich von b)

Tab.6: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen von 3-p-Tolyl-1-p-menthen-3-ol (20) in $CDCl_3$ bezogen auf TMS als internen Standard

ppm	Multiplizität	J_{C-H} [Hz]	Zuordnung
145.1	S_m		C-1'
137.2	S_m		C-1
135.7	S_m	4-6 mit 7'-H_3 und 3',5'-H_2	C-4'
130.0	D_m	158 mit 2-H	C-2
128.6	D	156 mit 3'-H bzw. 5'-H	C-3',5'
	quint	5-6 mit 7'-H_3 und 3'-H	
(dopp.Intensität)		bzw. 5'-H	
125.8	D	158 mit 2'-H bzw. 6'-H	C-2',6'
	d	7 mit 2'-H bzw. 6'-H	
(dopp.Intensität)			
76.0	S_m		C-3
50.1	D_m	125 mit 4-H	C-4
31.6	T_m	125 mit 6-H_2	C-6
25.9	D_m	125 mit 8-H	C-8
24.0	Q_m	125 mit 7-H_3	C-7$^+$
23.5	Q_m	125 mit 9-H_3	C-9$^+$
21.0	Q_m	125 mit 7'-H_3	C-7'
19.3	T_m	125 mit 5-H_2	C-5
18.6	Q_m	125 mit 10-H_3	C-10

+) Zuordnungen austauschbar

Inkrementberechnungen:

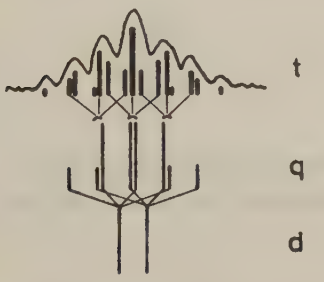
C-...	: 128.5 +	z_{-CH_2OH} +	z_{-CH_3}	= ...	
C-1'	: 128.5 +	13.0	- 3.1	=	138.4
C-4'	: 128.5 +	9.3	- 1.2	=	136.6
C-2',6'	: 128.5 -	1.4		=	127.1
C-3',5'	: 128.5		+ 0,6	=	129.1

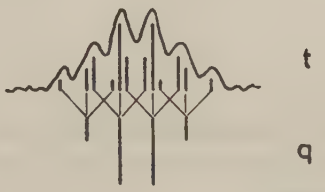
Fortsetzung Tab.6:

Inkrementberechnungen Aliphatenbereich:

C-...	:	27.6	+ z_{OH}	+ z_{Phenyl}	+ $z_{C(CH_3)_2}$		=	...
C-3	:	27.6	+ 42.2	+ 17.5			=	85.5
C-4	:	27.6	+ 8.4	+ 7.3	+ 21.2		=	64.5

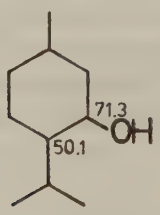
Die beiden Signale doppelter Intensität bei 128.6 und 125.8 ppm lassen sich durch ihr unterschiedliches Kopplungsmuster leicht zuordnen: C-2',6' zeigt durch Kopplung mit nur einem m-Proton eine Ferndublettaufspaltung, während C-3',5' eine Fernquintett-Aufspaltung besitzt, was durch die zusätzliche Kopplung mit den Protonen der aromatischen Methylgruppe erklärt werden kann. Die Inkrementberechnung bestätigt diese Annahme. Die Abweichung der gemessenen von den berechneten Werten erklärt sich aus der Verwendung der $-CH_2OH$-Inkremente anstelle der Cyclohexanol-Inkremente. Kein Zweifel besteht auch an der Zugehörigkeit des Dubletts von Fernmultipletts bei 130.0 ppm zum Kohlenstoff C-2. Erheblich schwieriger ist jedoch die Zuordnung der verbleibenden drei Signale im aromatischen Bereich, die endgültig erst durch Vergleich mit 3-Phenyl-1-menthen-3-ol (21) möglich wurde. C-1 koppelt geminal mit dem Proton an C-2 und mit den Protonen der C-7-Methyl- und der C-6-Methylengruppe. $^2J_{C-H}$ liegen bei 5-7 Hz. Es ergibt sich ein Ferndublett von Quartetts von Tripletts, das das Aussehen eines Quintetts hat und so dem Signal bei 137.2 ppm zugeordnet werden kann.



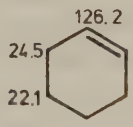


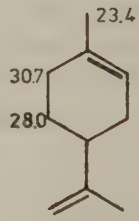
Aufspaltungsmuster von C-1 und C-4'

C-4' koppelt mit 2',6'-H_2 und mit den Protonen der aromatischen Methylgruppe. Da beide Kopplungen in derselben Größenordnung liegen, zeigt das resultierende Ferntriplett von Fernquartetts das Bild eines verbreiterten Sextetts und paßt damit zum Signal bei 135.7 ppm.
Die Resonanz bei tiefstem Feld gehört zu C-1'; die Abweichung des berechneten vom gemessenen Wert ($\Delta\,\delta \approx 6.7$ ppm) ist für C-1' durch Verwendung des -CH_2OH-Inkrements statt eines Cyclohexanol-Inkrements erwartungsgemäß am größten. Eine Ferntriplettaufspaltung durch die m-Protonen ist - wohl auf Grund der Überlagerung durch weitere Kopplungen - nicht mehr zu erkennen.
Die Zuordnung der Signale bei 76.0 und 50.1 ppm ist durch Inkrementberechnung und Vergleich mit Menthol gesichert. Die Inkrementberechnungen ergeben relativ große Abweichungen, was angesichts der Tatsache, daß die angegebenen Werte nur für monosubstituierte Cyclohexane zulässig sind, nicht verwundert. Dennoch sind sie als Zuordnungshilfe brauchbar, da im vorliegenden Molekül in diesem Verschiebungsbereich nur die genannten Signale in Frage kommen.
Ebenfalls mit Hilfe von Vergleichssubstanzen[32] erfolgt die Zuordnung der Atome 5 und 6.



10





12

C-8 der Isopropylgruppe ist an seiner Dublettaufspaltung leicht zu erkennen und wird der Resonanz bei 25.8 ppm zugeordnet.

Über die vier Methylgruppen lassen sich mit diesem Spektrum allein kaum weitere Aussagen treffen. Durch Vergleich mit dem Spektrum des Phenyl-Derivates wird jedoch die Zuordnung der aromatischen Methylgruppe möglich.
Von den verbleibenden drei Methylresonanzen treten die Methylgruppe an C-1 und eine der Isopropylmethylgruppen bei tieferem Feld (24.0 und 23.5 ppm), die andere bei höherem Feld auf (18.6 ppm). Der relativ große Unterschied zwischen den beiden Isopropylmethylgruppen (4.9 bzw. 5.4 ppm) könnte durch einen hochfeldverschiebenden γ-Effekt mit den Protonen der C-4-Methylengruppe erklärt werden, was gleichzeitig deren relativ niedrigen ppm-Wert plausibel machen würde.

Das breitbandentkoppelte ^{13}C-NMR-Spektrum des Phenylmenthenols 21 zeigt erwartungsgemäß große Ähnlichkeit mit dem des Tolyl-Derivates (Abb.20).

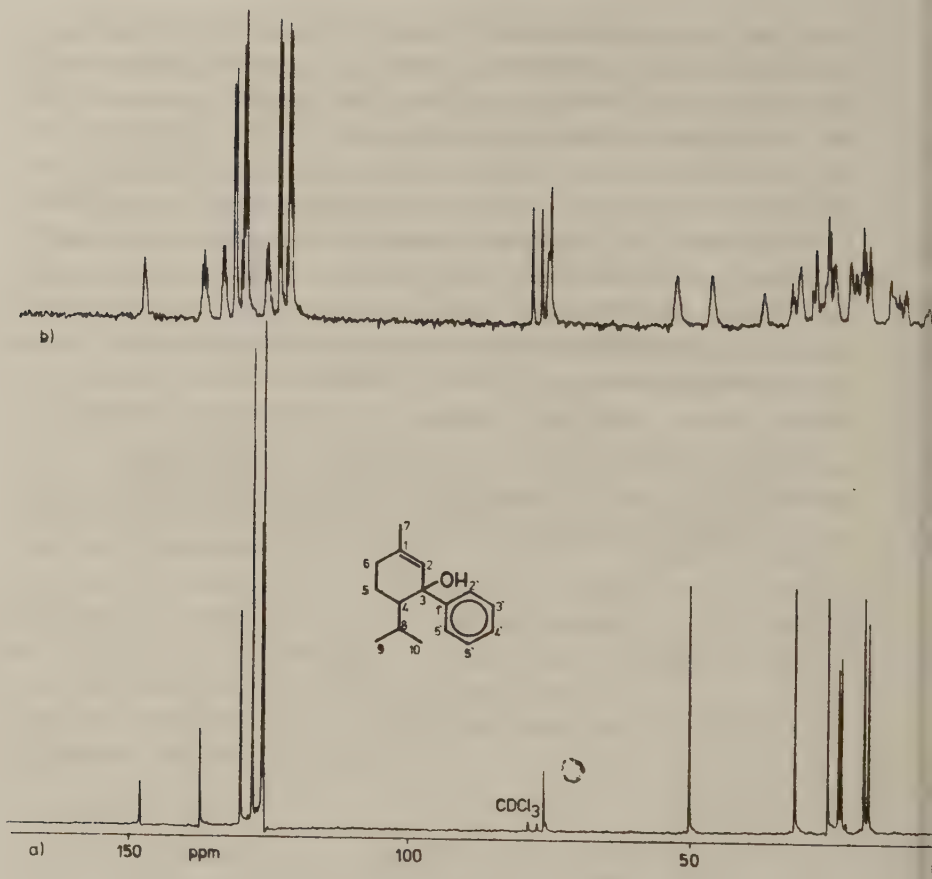


Abb.20a,b: ^{13}C-$\{^1H\}$-NMR-Spektren von 3-Phenyl-1-p-menthen-3-ol (21) in $CDCl_3$

a) breitbandentkoppeltes Spektrum

b) alternierend gepulstes Doppelresonanzspektrum

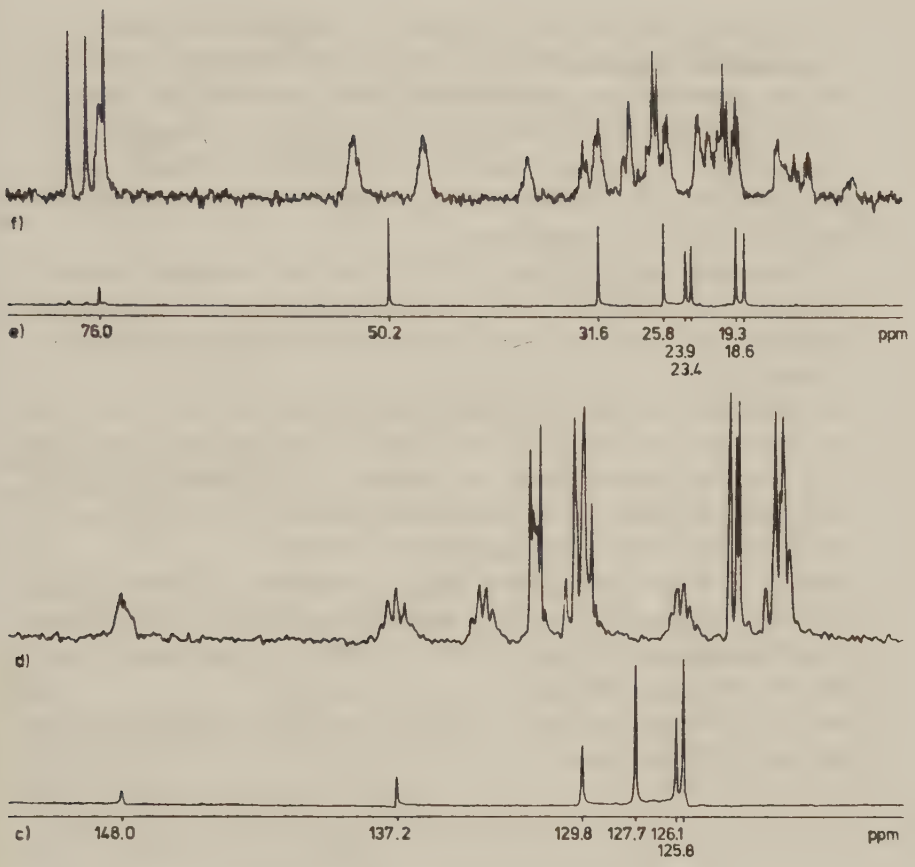


Abb.20c-f: c) gespreizter Aromatenteilbereich von a)
d) gespreizter Aromatenteilbereich von b)
e) gespreizter Aliphatenteilbereich von a)
f) gespreizter Aliphatenteilbereich von b)

Das dem C-1' zugeordnete Signal bei 148.0 ppm ist hier im Vergleich zum Tolyl-Derivat um 2.9 ppm zu tieferem Feld verschoben; dies entspricht dem fehlenden Methylinkrement (3.1 ppm).

Die Signale für C-1 und C-2 sind in Verschiebung und Kopplungsmuster identisch mit denen des Tolylderivats.
In der Verschiebung unverändert erscheint auch das doppelt intensive Dublett der C-Atome 2',6'; durch Fernkopplung mit jetzt 2 m-Protonen zeigt es hier eine komplexere Aufspaltung zu einem Ferntriplett gegenüber der Ferndublettaufspaltung im Tolylderivat.
Die Resonanz der C-Atome 3',5' ist um das fehlende Methylinkrement zu tieferem Feld verschoben; die Ferndublettaufspaltung des Dubletts wird durch weitere Kopplungen überlagert.
Den größten Einfluß hat die fehlende Methylgruppe auf C-4': Das Dublett von Ferntripletts ist um 9.6 ppm (Methylinkrement 9.3 ppm) zu höherem Feld verschoben. Die aliphatischen Kohlenstoffatome treten bei genau denselben Feldstärken in Resonanz wie beim Tolylderivat.
Durch das Fehlen des Quartetts der aromatischen Methylgruppe ist das gekoppelte Spektrum etwas übersichtlicher und läßt eine eindeutige Differenzierung in Methyl-, Methylen- und Methin-Kohlenstoffe zu.
Für die weitere Zuordnung gelten dieselben Überlegungen wie für das Tolylderivat.

Tab.7: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen des 3-Phenyl-1-p-menthen-3-ol(21) in $CDCl_3$

ppm	Multiplizität	J_{C-H} [Hz]	Zuordnung
148.0	S_m		C-1'
137.2	S_m		C-1
129.8	D	160 mit 2-H	C-2
	q	6 mit 7-H_3	
127.7	D	160 mit 3'-H bzw. 5'-H	C-3',5'
	d	8 mit 3'-H bzw. 5'-H	
(doppelte Intensität)			
126.1	D	160 mit 4'-H	C-4'
125.8	D	160 mit 2'-H bzw. 6'-H	C-2',6'
	t,m	6 mit 2'-H bzw. 6'-H und	
(dopp.Intensität)		4'-H	
76.0	S_m		C-3
50.2	D_m	122 mit 4-H	C-4
31.6	T_m	126 mit 6-H_2	C-6
25.8	D_m	126 mit 8-H	C-8
23.9	Q_m	126 mit 7-H_3	C-7$^+$
23.4	Q_m	126 mit 9-H_3	C-9$^+$
19.3	T_m	126 mit 5-H_2	C-5
18.6	Q_m	126 mit 10-H_3	C-10

Inkrementberechnungen:

C-... : 128.5 + z_{CH_2OH} = ...

C-1' : 128.5 + 13.0 = 141.5

C-2',6' : 128.5 - 1.4 = 127.1

C-3',5' : 128.5 + 0.6 = 129.1

C-4' : 128.5 - 1.2 = 127.3

+) Zuordnungen paarweise austauschbar

5.3 Elektronenspektren der Modellsubstanzen in konz. Schwefelsäure

Die Elektronenspektren der beiden Verbindungen 20 und 21 in konz. Schwefelsäure (Abb.21) zeigen neben der sehr intensiven Absorption des violetten Lichtes nur vergleichbar geringe Absorptionen im ultravioletten Bereich. Während 3-Phenyl-1-p-menthen-3-ol (21) mit 412 ein den Literaturwerten vergleichbares Absorptionsmaximum besitzt, ist das Maximum des Tolyl-Derivates 20 um 15 nm zu längerer Wellenlänge verschoben. Dieser deutliche bathochrome Effekt muß ausschließlich durch die aromatische Methylgruppe verursacht sein.

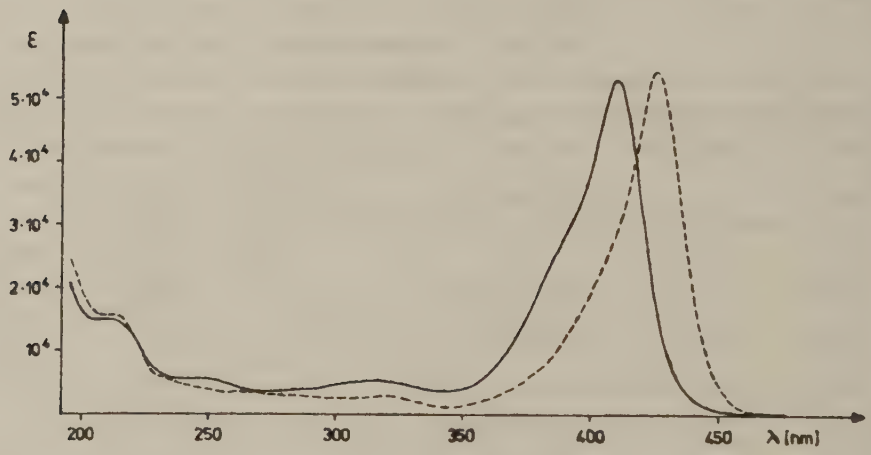


Abb.21: Elektronenspektren von

	λ_{max}	ε
3-Phenyl-1-p-menthen-3-ol (21) ———	412 nm	52 500
3-p-Tolyl-1-p-menthen-3-ol (20) -----	427 nm	54 000

in konz. Schwefelsäure

Die ^{13}C-$\{^1H\}$-Kernresonanzspektren liefern den Beweis für die Zuordnung dieser Absorptionen zu den entsprechenden Carbenium-Ionen.

5.4 ^{13}C-NMR-Spektren der Modellsubstanzen und des Cannabidiols in konz. Schwefelsäure

Das breitbandentkoppelte ^{13}C-NMR-Spektrum des 3-p-Tolyl-1-p-menthen-3-ol (20) in konzentrierter Deuteroschwefelsäure zeigt im Vergleich zu dem in Chloroform ein wesentlich verändertes Bild:

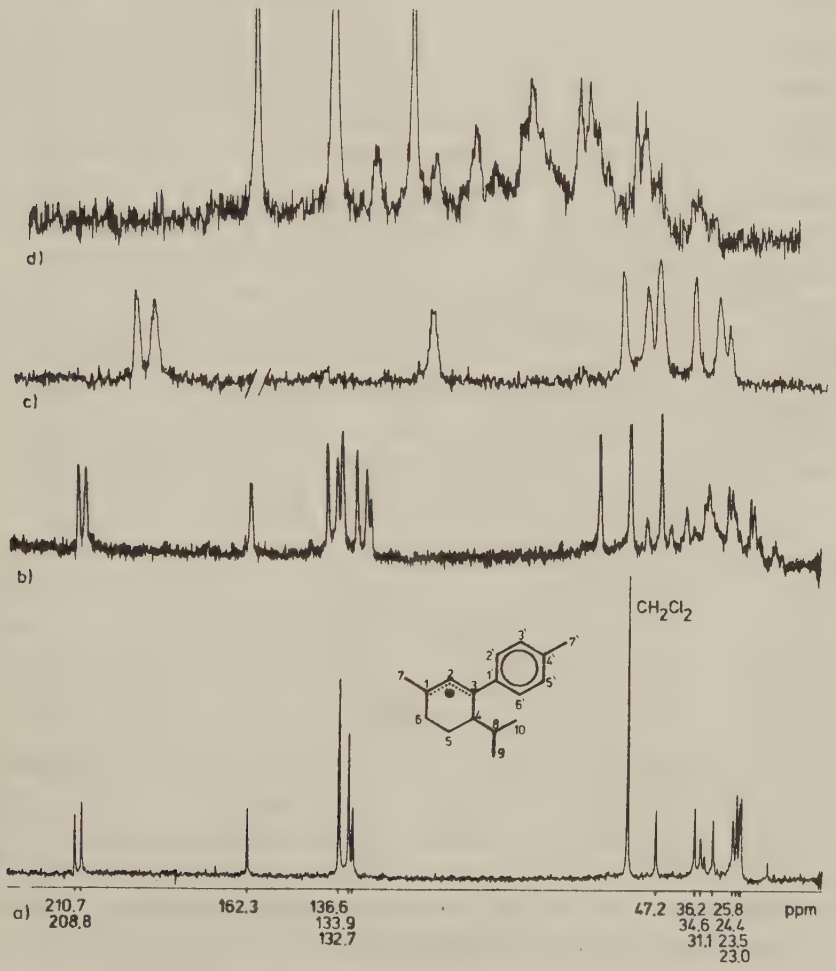


Abb.22a-d: ^{13}C-{^{1}H}-NMR-Spektren des 3-p-Tolyl-2-p-menthenyl-Kations (22) in konz. D_2SO_4 bezogen auf CH_2Cl_2 als internen Standard
a) breitbandentkoppeltes Spektrum
b) alternierend gepulstes Doppelresonanzspektrum
c) gespreizter Aromatenteilbereich von b)
d) gespreizter Aliphatenteilbereich von b)

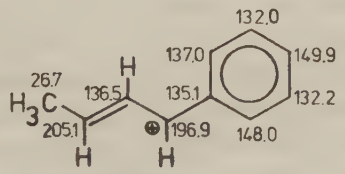
Tab.8: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen des 3-p-Tolyl-2-p-menthenyl-Kations (22) in konz. D_2SO_4, bezogen auf CH_2Cl_2 als internen Standard

ppm	Multiplizität	J_{C-H} [Hz]	Zuordnung
210.7	S_m		C-3$^+$
208.8	S_m		C-1$^+$
162.3	S		C-4'
	q	7 mit 7'-H_3	
	m(t?)	2 mit 2',6'-H_2	
136.6	D	160 mit 2'-H bzw. 6'-H	C-2',6'
	d	5 mit 2'-H bzw. 6'-H	
(doppelte Intensität)			
136.6	S_m	verdeckt	C-1'
133.9	D	160 mit 3'-H bzw. 5'-H	C-3',5'
	m (quint?)	2 mit 3'-H bzw. 5'-H und	
(doppelte Intensität)		7'-H_3	
132.7	D	160 mit 2-H	C-2
	m	2 mit 7-H_3 und 6-H_2	
47.2	D_m	132 mit 4-H	C-4
36.2	D		C-8
34.6	T		C-6
31.1	Q		C-7
25.8	T	Überlagerungen	C-5
24.4	Q		C-7'
23.5	Q		C-9$^\Delta$
23.0	Q		C-10$^\Delta$

$^{+,\Delta}$ Zuordnung paarweise austauschbar

Das Signal bei 76.0 ppm, im Spektrum der Ausgangsverbindung dem alkoholischen C-3 zugeordnet, ist verschwunden, während bei tiefem Feld (210.7 und 208.8 ppm) zwei neue Resonanzen auftreten. Von den ursprünglich 6 Signalen im aromatischen Bereich erscheint eines sehr stark, 3 weitere nur wenig tieffeldverschoben. Die 8 aliphatischen Resonanzen sind erhalten geblieben, erscheinen jedoch ebenfalls tieffeldverschoben.

Die Resonanzen bei 210.7 und 208.8 ppm lassen sich in guter Übereinstimmung mit den von OLAH und SPEAR[36] für offenkettige phenylsubstituierte Enylcarbenium-Ionen gefundenen Werten den kationischen Zentren eines Allylcarbenium-Ions zuordnen. Dies beweist die vollständige Umsetzung des ungesättigten Alkohols zum Cyclohexenylcarbenium-Ion.
Als einziges Dublett einfacher Intensität ist der zentrale Kohlenstoff 2 des Allylsystems sicher bei 132.7 ppm zu identifizieren. Auch dieser Wert stimmt mit den oben zitierten Beispielen überein. Bei den von OLAH gewählten Meßbedingungen (FSO_3H in SO_2ClF als Lösungsmittel, -60°C) zeigen sich bei einigen Kationen für die Phenylsubstituenten 6 Signale. Als Beispiel sei das 1-Methyl-3-phenyl-allyl-Kation (23) angeführt.



23

Während sich die Werte für die m-Kohlenstoffatome nur um 0.2 ppm unterscheiden, ergibt sich für die o-Kohlenstoffatome eine Differenz von 11.0 ppm, die durch einen starken abschirmenden γ-Effekt des Protons an C-2 auf C-2' erklärt wird. Das hiervon nicht berührte C-6' zeigt im Vergleich zu C-4' nur geringe Hochfeldverschiebung um 1.9 ppm, was auf

eine relativ gleichmäßige Delokalisierung der positiven Ladung im aromatischen Ring auf die Kohlenstoffatome 2',6' und 4' schließen läßt.
Im Unterschied dazu zeigen die o-ständigen Kohlenstoffe in Verbindung 22 (unter anderen Meßbedingungen: konz. D_2SO_4, 30°C) Äquivalenz, d.h. treten für die 6 Ring-Kohlenstoffatome nur 3 Signale in einem Intensitätsverhältnis von etwa 3:2:1 auf. Das Signal mit der dreifachen Intensität trennt sich im 22,628 MHz-Spektrum (Abb.23) in 2 Signale bei 136.4 und 136.7 ppm im Verhältnis 1:2, die im gekoppelten Spektrum ein Singulett bzw. Dublett ergeben. Da das Singulettsignal bei 162.3 ppm aufgrund seiner Fernaufspaltung - es zeigt ein von Ferntripletts überlagertes Fernquartett durch Kopplung mit 2 m-Protonen an C-2' bzw. C-6' und den Protonen der aromatischen Methylgruppe - und seiner extremen Tieffeldverschiebung dem C-4' zugeordnet werden muß, gehört das Singulett bei 136.4 ppm zu C-1'. Seine Fernkopplungen sind durch Überlagerungen mit dem Tieffeldteil des Dublettsignals von C-2 nicht zu erkennen. Die beiden Signale doppelter Intensität bei 136.7 und 133.9 ppm gehören zu C-2',6' bzw. C-3',5'. Erinnert man sich, daß die unterschiedliche Verschiebung der o-Kohlenstoffe in Verbindung 23 durch einen einseitigen γ-Effekt hervorgerufen wird, so fällt am untersuchten Cyclohexenyl-Kation 22 der zusätzliche Einfluß der benachbarten Isopropylgruppe ins Auge, bei der 8-H oder 4-H mit 6-H' in Wechselwirkung treten kann. Durch einen beiderseitigen γ-Effekt abgeschirmt, erscheinen infolgedessen beide o-Kohlenstoffatome gleichermaßen hochfeldverschoben bei 136.7 ppm

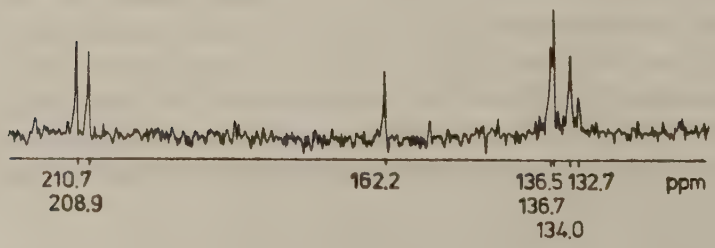


Abb.23: 22,628 MHz-^{13}C-NMR-Spektrum von 22 in konz. D_2SO_4

Diese Zuordnung wird durch das gekoppelte Spektrum bestätigt, in dem das Dublett doppelter Intensität bei 136.7 ppm eine Ferndublettaufspaltung zeigt, hervorgerufen durch Kopplung mit jeweils einem m-Proton. C-3',5' koppeln dagegen zusätzlich mit den Protonen der aromatischen Methylgruppe und zeigen eine komplexere Struktur.

Von den acht Signalen der aliphatischen Kohlenstoffe ist das Dublett von C-4 zu tiefem Feld (42.2 ppm) abgesetzt. Die drei Signale bei höchstem Feld (24.4, 23.5, 23.0 ppm) sind sicher als Quartetts auszumachen. Von diesen gehört das Signal bei 24.4 ppm zur aromatischen Methylgruppe, was der Vergleich mit dem Phenyl-Derivat beweist. Die beiden anderen müssen aufgrund ihrer Verschiebung den Isopropyl-Methylgruppen zugeordnet werden. C-5 und C-6 erscheinen bei 25.8 und 34.6 ppm als Tripletts. Die direkte Kopplung der Signale bei 36.2 und 31.1 ppm läßt sich - bedingt durch Signalüberlagerungen - nicht eindeutig erkennen, doch dürfte es sich beim tiefer erscheinenden um das Dublett von C-8, beim höher liegenden um das Quartett von C-7 handeln.

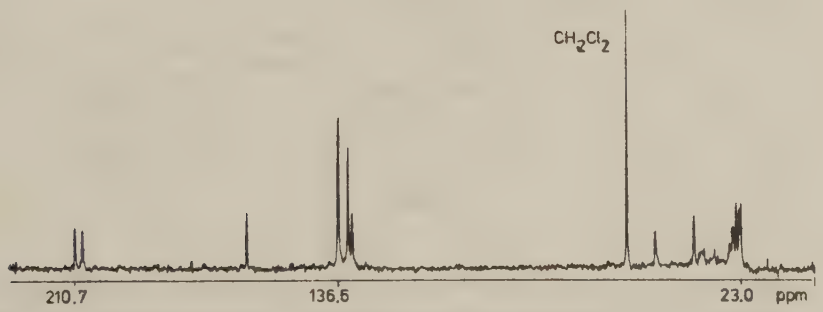
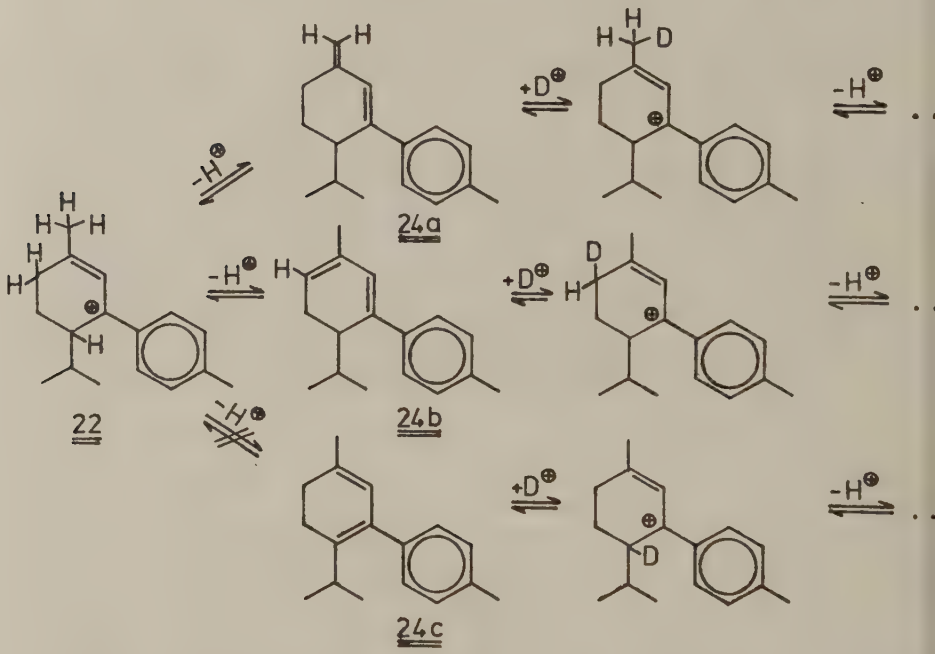


Abb.24: ^{13}C-NMR-Spektrum von 22 in konz. D_2SO_4, aufgenommen 29 h nach Herstellung der Lösung

In einem zweiten breitbandentkoppelten Spektrum (Abb.24), aufgenommen nach 29 Stunden mit derselben Lösung in konz. Deuteroschwefelsäure, zeigt sich, daß zwei der acht Aliphaten-Signale stark an Intensität verloren haben, während alle

übrigen unverändert geblieben sind. Dies läßt den Schluß zu, daß die zu den beiden verschwundenen Signalen gehörenden Kohlenstoffatome ihre direkt gebundenen Protonen durch Austausch mit dem Lösungsmittel verloren und durch Deuteronen ersetzt haben. Dieser Austausch betrifft die C-Atome 7 und 6 und muß über folgendes Gleichgewicht zwischen Carbenium-Ion und konjugierten Dienen erfolgen[37]:



Bemerkenswert ist, daß von den drei denkbaren konjugierten Dienen (24a-c) ausschließlich die beiden mit linear konjugierten Doppelbindungen (24a und 24b) im Gleichgewicht vorliegen, nicht aber das gekreuzt konjugierte 24c mit den Doppelbindungen Δ^1 und Δ^3. Beweis dafür ist, daß das Signal für C-4 bei 47.2 ppm keine Abnahme erfährt. Auch nach 11 Tagen Stehenlassen der Lösung sind keine weiteren durch

H-D-Austausch erklärbaren Veränderungen zu erkennen. Gleichzeitig bestätigt dieser Austausch die zuvor getroffene Zuordnung der Aliphatensignale, da ein Austausch nur an α-ständigen Kohlenstoffatomen, die dem Allylsystem direkt benachbart sind, möglich erscheint.

3-Phenyl-1-p-menthen-3-ol (21) zeigt wie erwartet in konz. Schwefelsäure ein dem Tolyl-Derivat ähnliches ^{13}C-NMR-Spektrum.

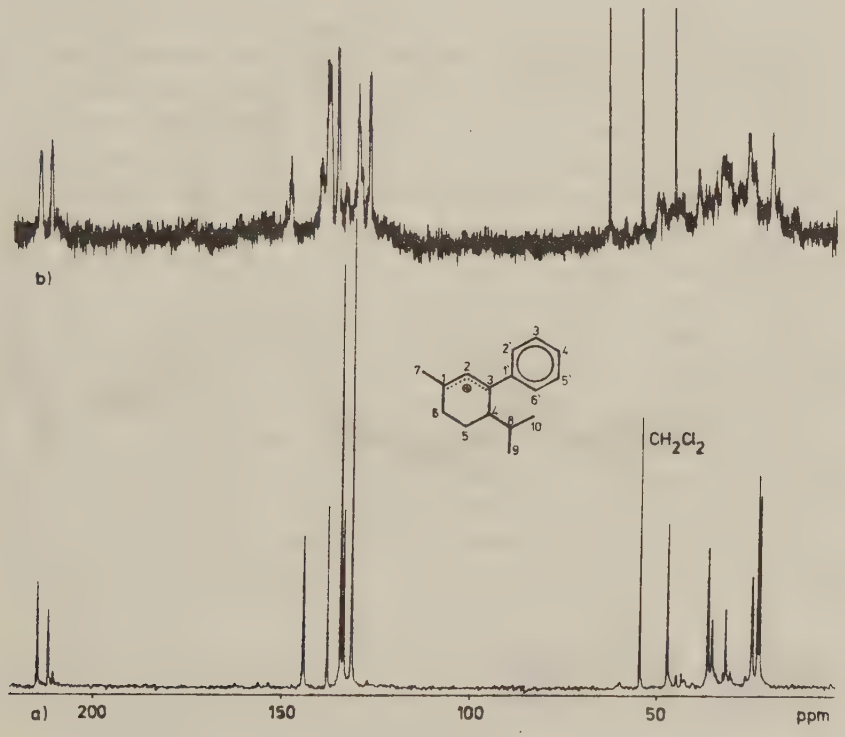


Abb.25a,b: ^{13}C-$\{^1H\}$-NMR-Spektren des 3-Phenyl-2-p-menthenyl-Kations (25) in konz. H_2SO_4/konz. D_2SO_4-Gemisch 0,5 + 0,7 ml, bezogen auf CH_2Cl_2 als internen Standard
a) breitbandentkoppeltes Spektrum
b) alternierend gepulstes Doppelresonanzspektrum

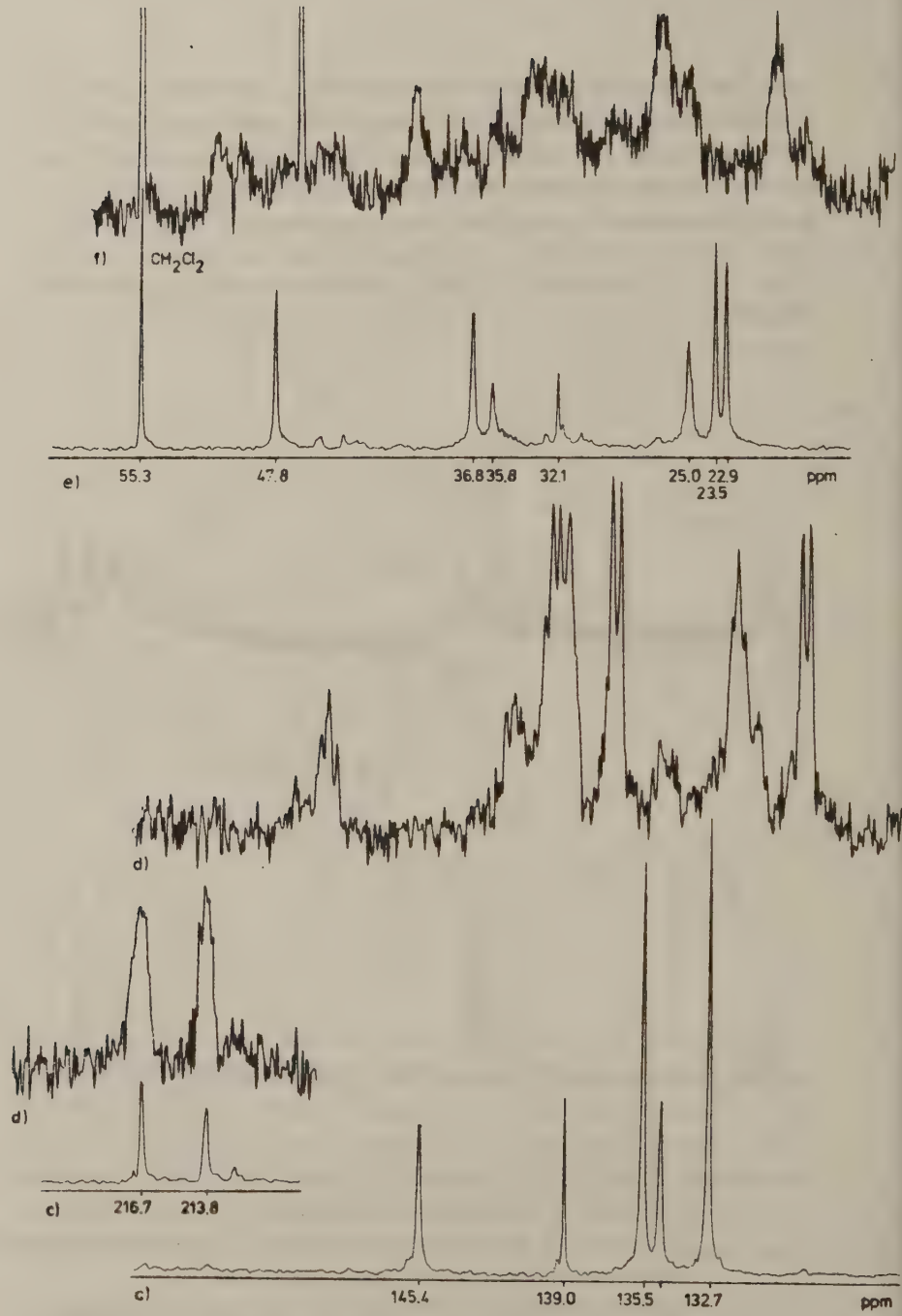


Abb.25c-f: c) gespreizter Aromatenteilbereich von a)
d) gespreizter Aromatenteilbereich von b)
e) gespreizter Aliphatenteilbereich von a)
f) gespreizter Aliphatenteilbereich von b)

Bei tiefem Feld erscheinen die Singuletts der kationischen Kohlenstoffe C-1 und C-3 bei 216.7 und 213.8 ppm und sind damit im Vergleich zum Tolyl-Derivat beide tieffeldverschoben. Die Dublett-Signale doppelter Intensität sind an ihren Fernkopplungen leicht zu unterscheiden: Das Signal bei 132.7 ppm gehört als Ferndublett zu C-3',5', während das bei 135.5 ppm durch Kopplung mit 2 m-Protonen eine Ferntriplettaufspaltung zeigt und C-2',6' zuzuordnen ist. Das Dublett von C-4' erscheint wieder deutlich tieffeldverschoben bei 145.4 ppm mit einer Ferntriplettaufspaltung durch m-Kopplung mit 2'-H und 6'-H und ist durch o-Kopplungen mit 3',5'-H_2 weiter aufgespalten. Obwohl die Signale für C-2 und C-1' teilweise mit anderen Signalen überlappen, läßt sich aufgrund der direkten Kopplungen die Zuordnung sicher treffen: Das Signal bei 139.0 ppm gehört zu C-1', das bei 134.7 ppm zu C-2.
Jedes der 7 aliphatischen C-Atome zeigt im breitbandentkoppelten Spektrum ein Signal. An seiner Tieffeldverschiebung und Dublettaufspaltung ist C-4 bei 47.8 ppm zu erkennen. Die drei Signale bei 36.8, 35.8 und 32.1 ppm lassen sich hier durch Überschneidungen und schlechte Auflösung kaum weiter interpretieren, sind jedoch in Analogie zum 3-p-Tolyl-2-p-menthenyl-Kation (22) den Kohlenstoffatomen 8,6 und 7 zuzuordnen. Dagegen ist die Gruppe der drei Signale bei hohem Feld als ein Triplett und zwei Quartetts zu identifizieren. Aufgrund des Verschiebungsbereiches muß es sich hierbei um die Isopropyl-Methylgruppen sowie um die C-5-Methylenbrücke handeln.

Tab.9: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen des 3-Phenyl-2-p-menthenyl-Kations(25)in einem Gemisch aus 0,5 ml konz. H_2SO_4 und 0,7 ml konz. D_2SO_4, bezogen auf CH_2Cl_2 als internen Standar

ppm	Multi-plizität	J_{C-H} [Hz]	Zuordnung
216.7	S		C-3$^+$
	m		
213.8	S		C-1$^+$
	m		
145.4	D	169 mit 4'-H	C-4'
	t	7 mit 2',6'-H_2	
139.0	S		C-1'
	?	verdeckt	
135.5	D	167 mit 2' bzw. 6'-H	C-2',6'
	t	5,5 mit 4',6'-H_2 bzw. 4',2'-H_2	
(doppelte Intensität)			
134.7	D	170 mit 2-H	C-2
	m		
132.7	D	170 mit 3' bzw. 5'-H	C-3',5'
	d	7,5 mit 5' bzw. 3'-H	
(doppelte Intensität)			
47.8	D	125 mit 4-H	C-4
36.8	D	Überlagerungen	C-8
35.8	T		C-6
32.1	Q		C-7
25.0	T		C-5
23.5	Q		C-9$^\Delta$
22.9	Q		C-10$^\Delta$

$^{+,\Delta}$) Zuordnung paarweise austauschbar

Dagegen konnte die Bildung des Allylcarbenium-Ions 14 aus CBD mit Hilfe der ^{13}C-NMR-Spektroskopie nicht eindeutig bewiesen werden.

Ein unmittelbar nach dem Auflösen von CBD in konz. Deuteroschwefelsäure aufgenommenes breitbandentkoppeltes Spektrum (Abb.26a) zeigt statt der erwarteten 8 nur 3 Signale im Aromatenbereich, die (nach Spin-Echo-Experimenten) alle zu quartären Kohlenstoffen gehören. Es muß sich dabei um die Kohlenstoffe C-1',3', C-5' und C-2' handeln.

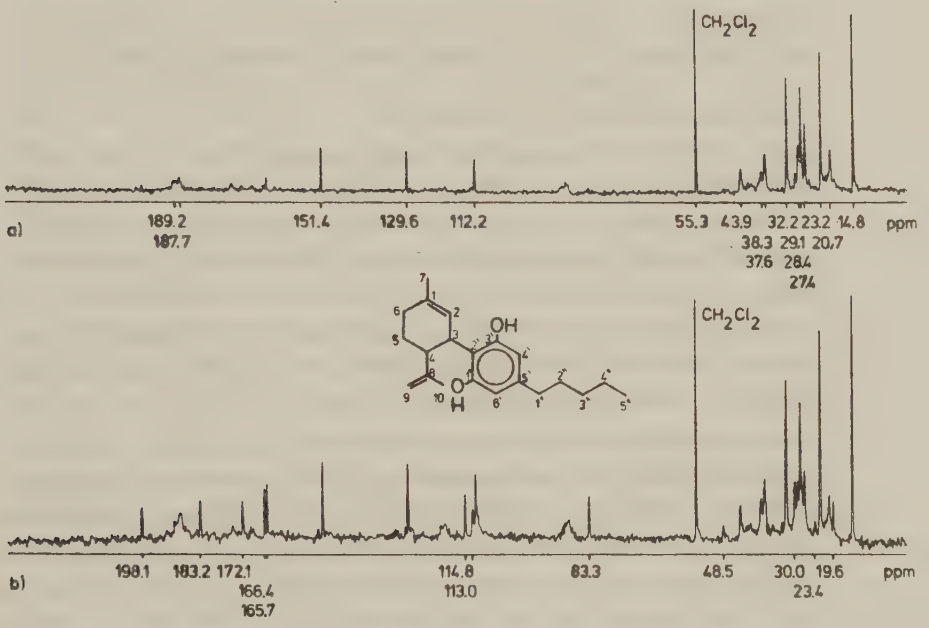


Abb.26a,b: Breitbandentkoppelte ^{13}C-$\{^1H\}$-NMR-Spektren von CBD (1) in konz. Deuteroschwefelsäure, bezogen auf CH_2Cl_2 als internen Standard

a) Beginn der Messung unmittelbar nach Lösen von CBD

b) Beginn der Messung 24 h nach Lösen von CBD

Das Fehlen der Kohlenstoffe C-4',6' läßt sich durch H-D-Austausch (elektrophile Substitution am Aromaten!) erklären, und auch die Doppelbindungen Δ^1 und Δ^8 dürften durch die Säure protoniert, d.h. deuteriert werden. Die so entstandenen tertiären Carbenium-Kohlenstoffe C-1 und C-8 sind außerhalb des Meßbereichs, der nur bis 220 ppm gewählt wurde, zu suchen, während die deuterierten Kohlenstoffe C-2 und C-9 im Aliphatenbereich im Rauschen verschwinden.
Die gesuchten, für das Enylsystem typischen Signale zwischen 180 und 220 ppm sind bei etwa 189.2 und 187.7 ppm nur andeutungsweise zu erkennen.
Auch eine Verlängerung der Reaktionszeit führt zu keiner Intensitätszunahme. Statt dessen ist die Entstehung von weiteren, unbekannten Folgeprodukten am Erscheinen zahlreicher neuer Signale (Abb.26b) zu beobachten. Von diesen läßt sich nur das Signal bei 83.3 ppm aufgrund seiner signifikanten Verschiebung einem tertiären Etherkohlenstoff zuordnen, welcher durch Protonierung der Etherbrücke noch zusätzlich tieffeldverschoben erscheint.

Dieses Verhalten scheint zunächst den Ergebnissen der UV/Vis-Untersuchungen zu widersprechen. Setzt man nämlich voraus, daß der ε-Wert von 14 in derselben Größenordnung liegt wie bei ähnlichen Carbenium-Ionen (z.B. 15, 16, 20 oder 21), so kann man aus den gemessenen Extinktionswerten berechnen, daß sich das eingesetzte CBD zu 80-90% in 14 umwandelt. Dieser Vorgang vollzieht sich in einer 10^{-5} molaren Lösung bei Raumtemperatur in etwa 48 h.
Hier dagegen sind bereits nach 24 h größere Konzentrationen an andersartigen Folgeprodukten zu erkennen. Die Ursache muß in der um einen Faktor von 10^5(!) höheren Konzentration an CBD gesucht werden. Denn es ist sehr wahrscheinlich, daß unterschiedliche Folgereaktionen verschiedenen Reaktionsordnungen gehorchen, so daß Art und Menge der entstehenden

Folgeprodukte entscheidend von der Ausgangskonzentration beeinflußt werden[36]. Diese ist jedoch durch die Meßmethode (z.B. NMR- oder UV/Vis-Spektroskopie) vorgegeben und kann nicht frei variiert werden, so daß man mit verschiedenen Methoden nicht immer zum gleichen Ergebnis gelangen muß.

5.5 Elektronenspektren der Modellsubstanzen nach Umsetzung mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in konz. Schwefelsäure

Von besonderer Bedeutung war nun die Frage, ob auch die Alkohole 20 und 21 mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure eine Reaktion eingehen, die der Farbreaktion mit CBD entspricht. Sollten die Cyclohexenylcarbenium-Ionen tatsächlich ein Zwischenprodukt auf dem Weg zum roten Farbstoff darstellen, so müßte dies der Fall sein.

Da Vorversuche zeigten, daß die für CBD günstigen Konzentrationsverhältnisse von 10^{-4} mol/l CBD : 10^{-2} mol/l p-DMAB für die Modellsubstanzen ungeeignet waren, wurde die Farbreaktion in höheren Konzentrationen durchgeführt (Abb. 27 und 28). Man erkennt, daß beide Serien von Elektronenspektren ein Absorptionsmaximum im roten Bereich mit einer Schulter bei etwa 30 nm kürzerer Wellenlänge besitzen.

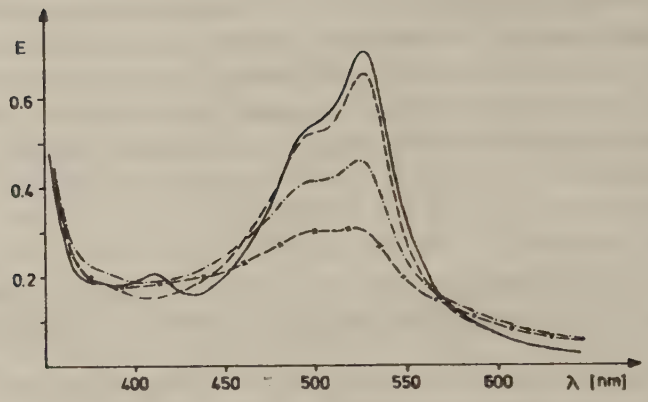


Abb.27: Elektronenspektren aus der Reaktion von 3-Phenyl-1-p-menthen-3-ol (21) mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure
Reaktionskonzentrationen 10^{-2} : 1 mol/l
Reaktionstemperatur 100°C
Meßkonzentrationen $2 \cdot 10^{-5}$: $2 \cdot 10^{-3}$ mol/l 21 : p-DMAB
——— nach 15 sec -.-.-.- nach 60 sec
------ nach 30 sec --x--x- nach 120 sec

Ihre Form weist große Ähnlichkeit mit den von der Reaktion mit CBD bekannten Spektren auf (vgl. Abb.13, S. 42). Die Lösung des Reaktionsproduktes aus Phenylmenthenol 21 zeigt ein leicht gelbstichiges Rot, während die Lösung aus Tolylmenthenol 20 eher purpurrot gefärbt ist. Ursache hierfür ist die um 14 nm längerwellige Absorption des Tolyl-substituierten Farbproduktes; die gleiche Erscheinung ist schon von den entsprechenden Carbenium-Ionen 22 und 25 bekannt. Mit zunehmender Dauer des Erhitzens wird der zunächst gebildete Farbstoff wieder zerstört; dies ist bei 21 schon nach 30 sec der Fall, bei 20 erst nach mehr als 60 sec. Hier sieht man auch am ersten Spektrum der Abb.28, daß die Vorstufe noch nicht vollständig zum Farbprodukt umgesetzt ist.

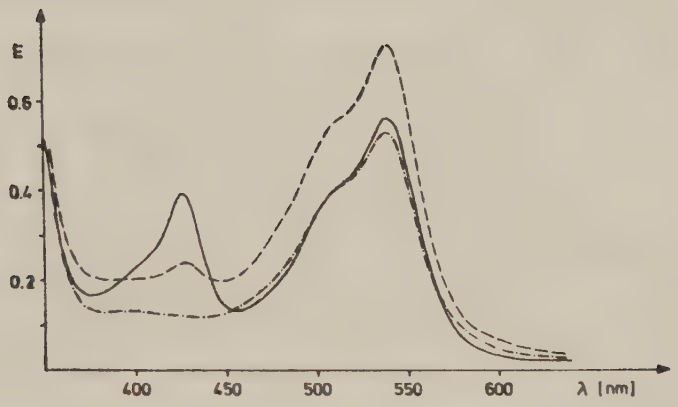


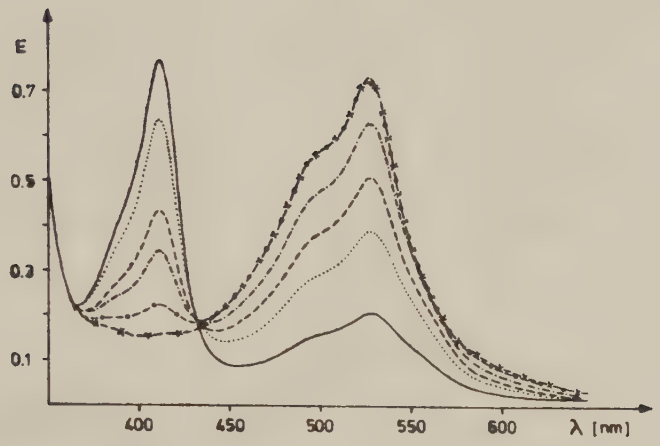
Abb.28: Elektronenspektren aus der Reaktion von 3-p-Tolyl-1-p-menthen-3-ol(20) mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure
Reaktionskonzentrationen 10^{-2} : 1 mol/l
Reaktionstemperatur 100°C
Meßkonzentrationen $2 \cdot 10^{-5}$: $2 \cdot 10^{-3}$ mol/l 20 : p-DMAB
——— nach 30 sec
------ nach 60 sec
-·-·-· nach 120 sec

6. Kinetische Messungen

Um den Zusammenhang, der offensichtlich zwischen der Bildung des roten Farbstoffes und dem Verschwinden des "gelben" Maximums besteht, näher zu untersuchen, wurden die Veränderungen der Extinktionen in Abhängigkeit von der Zeit beobachtet.
Es wurden für die Alkohole 20 und 21 sowie für CBD (1) zunächst folgende Bedingungen getestet:
Ein Reaktionsansatz, der jeweils 10^{-2} molar an Substrat und 1 molar an Aldehyd war, wurde im Wasserbad von 60°C erhitzt. In bestimmten Zeitabständen wurden Proben entnommen und in kalter konzentrierter Schwefelsäure 1:10, dann 1:50 verdünnt, so daß eine Meßkonzentration von $2 \cdot 10^{-5}$ mol/l (bezogen auf eingesetztes 20, 21 oder 1) entstand.
Die Extinktionen der Lösungen in den Maxima wurden gemessen, einige exemplarische Elektronenspektren in ihrem Verlauf aufgezeichnet.

Wie die Elektronenspektren und Schaubilder deutlich machen, ist die Abnahme der Substanz mit Absorptionsmaximum 413 bzw. 428 nm mit der Zunahme der Substanz mit Absorptionsmaximum 529 bzw. 540 nm korreliert.
Beim Vergleich der beiden Schaubilder 29-b und 30-b fällt auf, daß zwar die erreichbaren ε-Werte im selben Bereich liegen (31 000 bzw. 35 000), die Geschwindigkeit der Farbstoffbildung jedoch erheblich differiert. Für 21 beträgt die "Halbwertszeit" etwa 1,5 min, für 20 7,5 min.

a)



b)

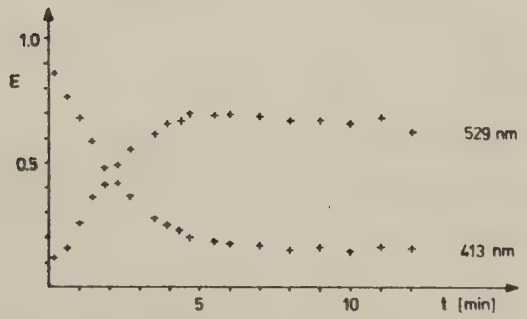


Abb.29 a,b; Reaktion von 3-Phenyl-1-p-menthen-3-ol (21) mit p-DMAB in konz. $_2$Schwefelsäure, Reaktionsansatz 10^{-2} : 1 mol/l, Reaktionstemperatur 60°C, Meßkonzentration $2 \cdot 10^{-5}$ mol/l bezogen auf 21

a) Elektronenspektren

	Rktszeit [sec]
1 ————	40
2 ·····	90
3 -------	140
4 -·-·-·-	210
5 --o--o-	250
6 --x--x-	330

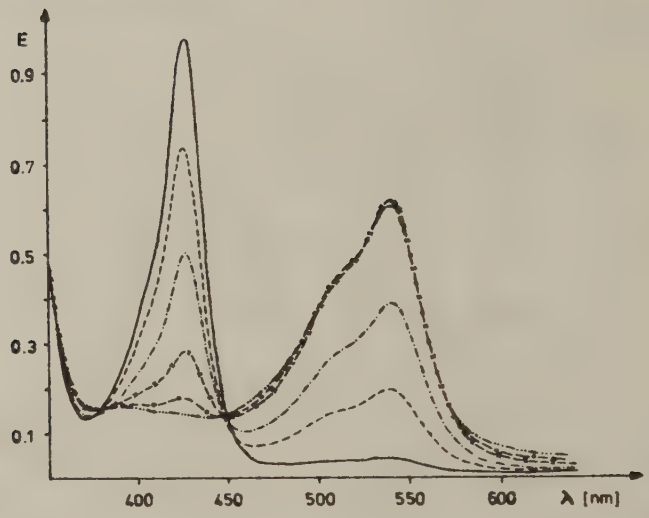
Absorptionsmaxima

gelb: 413 nm

rot: 529 nm

b) Extinktionen in den Maxima bei 413 nm und 529 nm aufgetragen gegen die Reaktionszeit

a)



b)

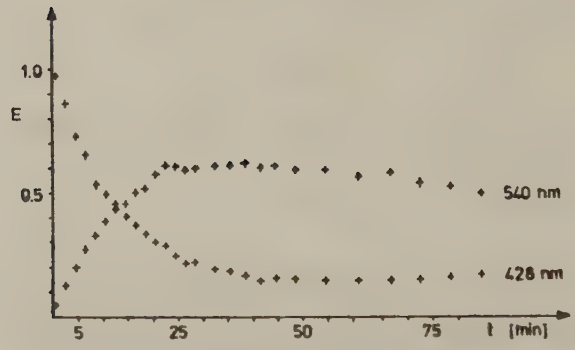


Abb.30a,b: Reaktion von 3-p-Tolyl-p-menthen-3-ol(20) mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure
Reaktionsansatz 10^{-2} : 1 mol/l, Reaktionstemperatur 60°C, Meßkonzentration $2 \cdot 10^{-5}$ mol/l bezogen auf 20

a) Elektronenspektren

	Rktszeit [min]
1 ————	0,5
2 -------	4,5
3 -.-.-.-	10,5
4 --x--x-	22,5
5 --o--o-	35,5
6 -...-...	54,5

Absorptionsmaxima
gelb: 428 nm
rot: 540 nm

b) Extinktionen in den Maxima bei 428 nm und 540 nm aufgetragen gegen die Reaktionszeit

Führt man die Reaktion mit CBD unter denselben Bedingungen durch, so erhält man Elektronenspektren, die ein Maximum bei 555 nm besitzen (Abb.31). Das Absorptionsmaximum und die Form der Spektren gleicht denjenigen, die unter ähnlichen Bedingungen (hohe Konzentration) mit dem Haschisch-Petroletherextrakt erhalten wurden. Bei längerem Erhitzen zeigt sich - wie ebenfalls schon beobachtet - eine allmähliche Zersetzung des zu Beginn gebildeten Fabrstoffes.

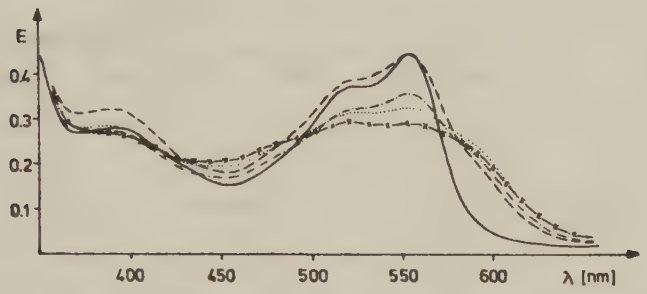
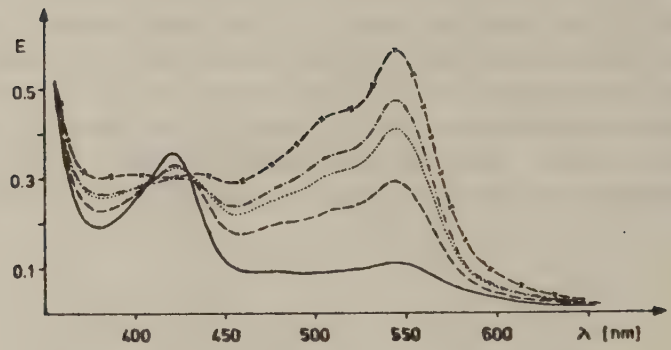


Abb.31: Elektronenspektren aus der Reaktion von CBD mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure
Ansatzverhältnis 10^{-2} : 1 mol/l, Reaktionstemperatur 60°C, Meßkonzentration $2 \cdot 10^{-5}$ mol/l bezogen auf CBD

1	———	1 min	λ_{max} 555 nm
2	-------	3 min	
3	-.-.-.-	5 min	
4	·····	9 min	
5	x-x-x-x	13 min	

Wenn die Konzentration der Reaktanden um den Faktor 10 erniedrigt wird, verschiebt sich das Maximum nach 545 nm (Abb.32-a). Die Form der Elektronenspektren zeigt, daß noch weitere Substanzen mit zusätzlichen Maxima gebildet werden, was auch daran zu bemerken ist, daß der maximal erreichte ε-Wert hier nur bei 29 000 liegt (Abb.32-b). Die Absorption bei 418 nm ändert sich nicht charakteristisch, da das zu Beginn vorhandene schwach ausgeprägte Maximum unter einer Schulter verschwindet.

a)



b)

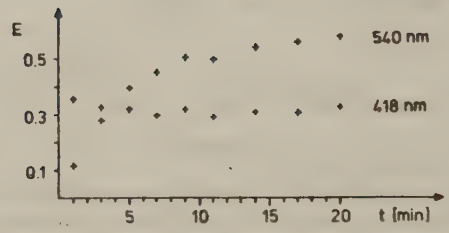


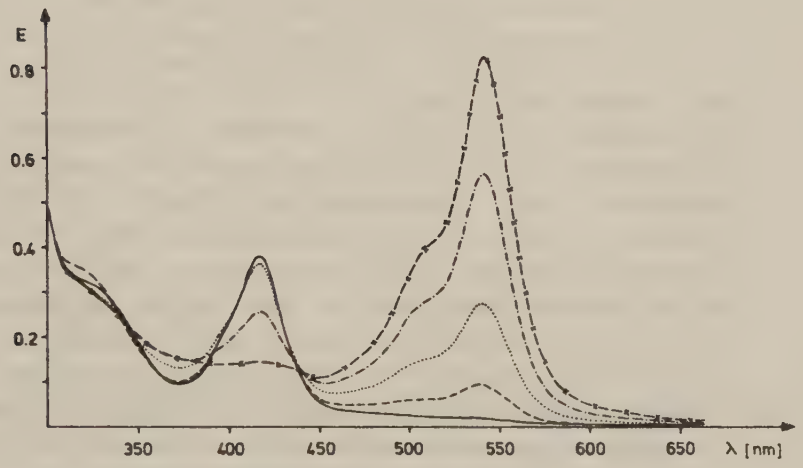
Abb.32a,b: Reaktion von CBD mit 10^{-3} p-DMAB in 10^{-1} konz. Schwefelsäure Ansatzverhältnis 10^{-3} : 10^{-1} mol/l, Reaktionstemperatur 60°C, Meßkonzentration $2 \cdot 10^{-5}$ mol/l bezogen auf CBD

a) Elektronenspektren λ_{max} 545 nm und 418 nm

1 ———— nach 1 min
2 ------- nach 3 min
3 ····· nach 5 min
4 -·-·-·- nach 7 min
5 --x--x- nach 17 min

b) Extinktionen bei 418 nm und 540 nm aufgetragen gegen die Reaktionszeit

Setzt man den Aldehyd in nur 10fachem Überschuß ein, so erhält man im Vergleich zum 100fachen Überschuß bei gleicher CBD-Konzentration wesentlich höhere Extinktionen im jetzt bei 540 nm liegenden Maximum (Abb.33a,b). Der höchste hier erreichte ε-Wert beträgt 44 000. Bedingt durch die kleinere Ausgangskonzentration liegt die HWZ hier bei 32 min. Jedoch liefert auch dieser Versuch keinen Hinweis auf die Funktion der Substanz mit Absorptionsmaximum 418 nm.



a)

Abb.33a: Reaktion von CBD mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure Ansatzverhältnis 10^{-3} : 10^{-2} mol/l, Reaktionstemperatur 60°C, Meßkonzentration $2 \cdot 10^{-5}$ mol/l bezogen auf CBD

a) Elektronenspektren

1	————	nach 1 min	λ_{max} 418 nm und
2	-------	nach 8 min	540 nm
3	.....	nach 20 min	
4	-.-.-.-	nach 43 min	
5	--x--x--	nach 108 min	

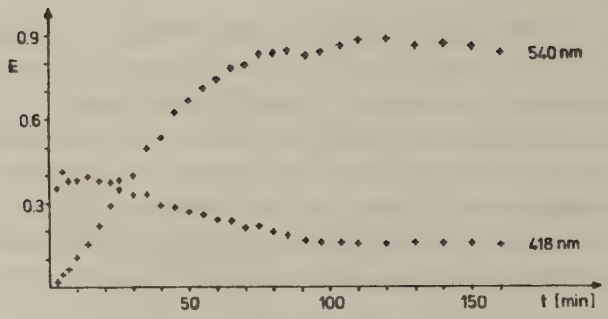
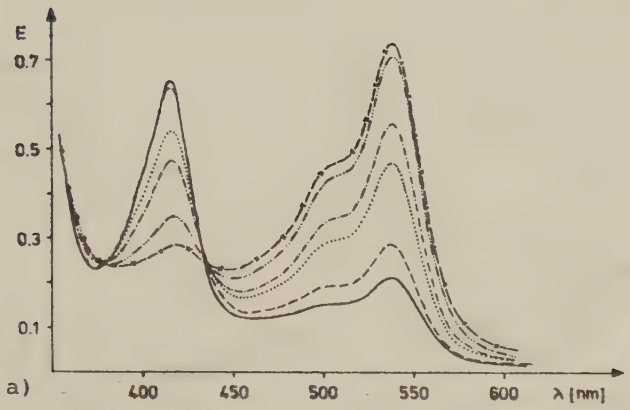


Abb.33b: Reaktion von CBD mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure (Bedingungen wie Abb.33-a)
Extinktionen in den Maxima bei 418 nm und 540 nm aufgetragen gegen die Reaktionszeit

Der Zusammenhang zwischen der Bildung der Substanz mit Absorptionsmaximum 540 nm und dem Verhalten der Absorption bei 418 nm wird erst bei einem Reaktionsansatz deutlich, in dem Reaktions- gleich Meßkonzentration ist. Das Schaubild (Abb.34-b) zeigt, daß zunächst das Maximum bei 418 nm stärker zunimmt als das bei 540 nm. Erst wenn die Konzentration der gelben Substanz höher geworden ist, wächst das Maximum bei 540 nm schneller. Da parallel zu dieser Zunahme zunächst eine Verlangsamung des Wachstums der Extinktion bei 418 nm zu beobachten ist, dann sogar eine Abnahme, ergibt sich die Schlußfolgerung, daß die Substanz mit Absorptionsmaximum 418 eine Vorstufe des roten Farbstoffes darstellt, die ihrerseits aus einer unbekannten Vorstufe entsteht.
Die von der Reaktion mit p-DMAB unbeeinflußte Bildung und allmähliche Zerstörung dieser Vorstufe unter denselben Bedingungen zeigt die Abb.35-b. Ein Vergleich beider Abbildungen macht deutlich, daß die mit 0,6 relativ geringe Extinktion sowie der Beginn der Abnahme der Absorption bei 418 nm nach 30 min auf die Reaktion mit p-DMAB zurückzuführen sind.



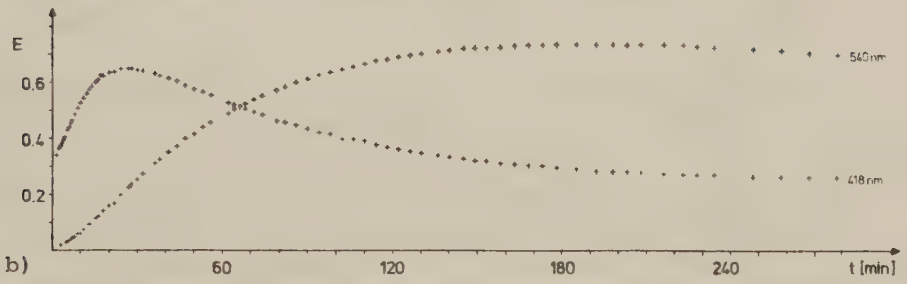
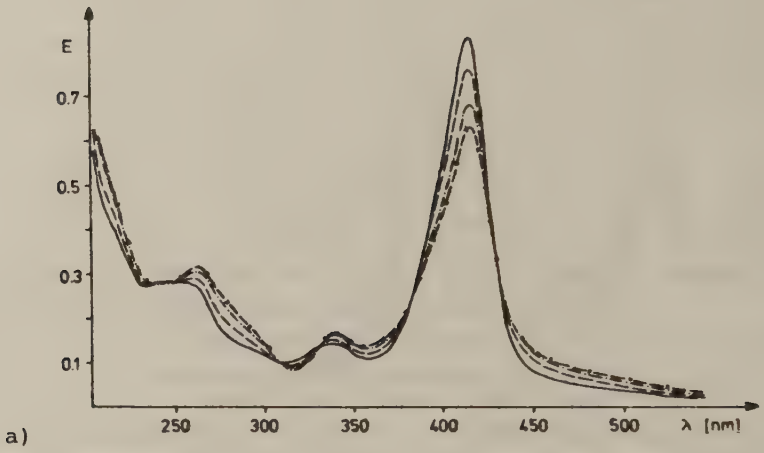


Abb.34a,b: Reaktion von CBD mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure
Reaktions- = Meßkonzentration $2 \cdot 10^{-5}$: $2 \cdot 10^{-3}$ mol/l
CBD : p-DMAB, Reaktionstemperatur 60°C,

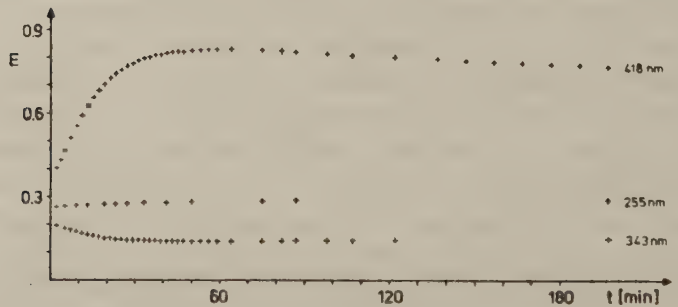
a) Elektronenspektren

1	————	nach 22 min
2	-------	nach 32 min
3	.....	nach 56 min
4	-.-.-.-	nach 74 min
5	-...-..	nach 130 min
6	--x--x-	nach 230 min

b) Extinktionen in den Maxima bei 418 nm und 540 nm aufgetragen gegen die Reaktionszeit



a)



b)

Abb.35a,b: Verhalten von CBD in konz. Schwefelsäure $2 \cdot 10^{-5}$ mol/l
Reaktionstemperatur 60°C

a) Elektronenspektren
   1 ———— nach 70 min
   2 ------- nach 220 min
   3 -.-.-.- nach 410 min
   4 --x--x- nach 570 min

b) Extinktionen in den Maxima bei 418 nm, 343 nm und 255 nm aufgetragen gegen die Reaktionszeit

Das Verhalten der Modellsubstanzen 20 und 21 unter denselben Bedingungen illustrieren die folgenden Abbildungen.

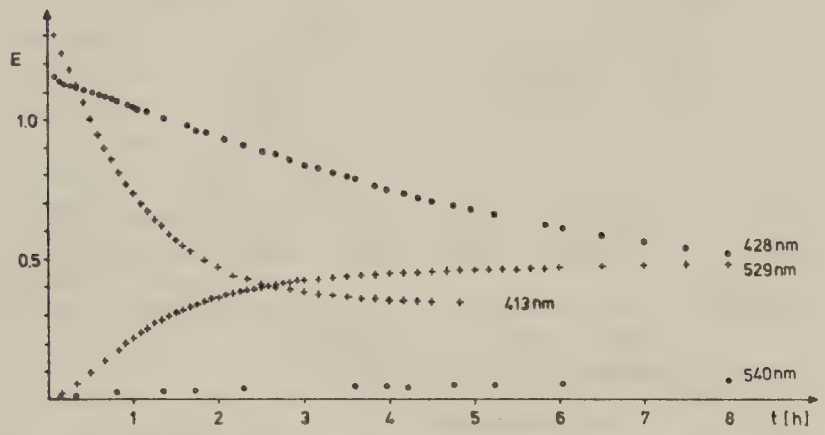


Abb.36a: Reaktion von 20 bzw. 21 mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure, Reaktionstemperatur 60°C,
Reaktions- = Meßkonzentration $2 \cdot 10^{-5}$: $2 \cdot 10^{-3}$ mol/l
Extinktionen bei 428 nm und 540 nm für 20 (ooooo), bei 413 und 529 nm für 21 (++++) aufgetragen gegen die Reaktionszeit

Aus Tolylmenthenol 20 findet keine Farbstoffbildung mehr statt, während aus Phenylmenthenol 21 noch ein Farbprodukt gebildet wird. Dieses zeigt jedoch mit einem Absorptionsmaximum bei 500 nm eine kürzerwellige Absorption. Nach der Form der Kurve ist es möglich, daß unter diesen Bedingungen zwar dieselben Farbstoffe entstehen wie in höherer Konzentration, jedoch hier der längerwellige (529 nm) in geringerer Konzentration gebildet wird, so daß sich die Intensitätsverhältnisse umkehren und die Absorption bei 500 nm als Maximum mit einer Schulter bei 530 nm erscheint (anstatt umgekehrt wie bisher immer ein Maximum bei 529 nm mit Schulter bei 500 nm).

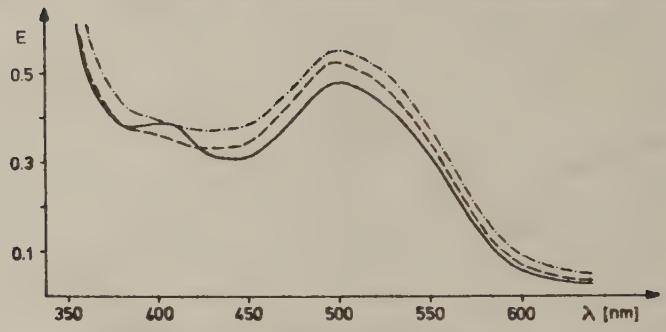


Abb.36b : Elektronenspektren aus der Reaktion von 21 mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure, Bedingungen wie Abb.36-a

———— nach 3 h
-·-·-·- nach 5 h
------- nach 9 h

Als Ergebnis dieser Versuche ist festzustellen, daß in der untersuchten Farbreaktion der eigentliche Ausgangsstoff für die Reaktion mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure nicht das CBD selbst ist, sondern ein Allylcarbenium-Ion, das in einer vorgeschalteten Reaktion aus CBD in konz. Schwefelsäure entsteht.
Die Modellsubstanzen zeigen eine vergleichbare Reaktivität dem Aldehyd gegenüber. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist bei 21 höher als bei 20, kenntlich an einer kürzeren HWZ (etwa 1,5 min gegenüber 7,5 min in der 10^{-2} molaren Lösung bei einem 100fachen Aldehyd-Überschuß), sowie an der Tatsache, daß in stark verdünnter Lösung aus 21 noch ein Farbstoff gebildet wird (wenn auch mit Absorptionsmaximum bei kürzerer Wellenlänge), während 20 unter diesen Bedingungen nicht mehr reagiert.

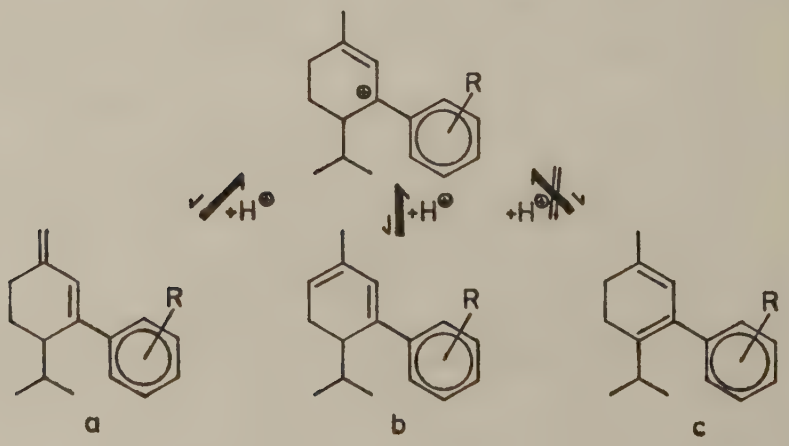
Im Vergleich zum CBD besitzen die Modellsubstanzen jedoch eine wesentlich geringere Reaktivität. CBD liefert in hoher Konzentration (10^{-2} mol/l) nur Zersetzungs- bzw. Folgeprodukte der eigentlichen Farbstoffe, während es in niedriger Konzentration ($2 \cdot 10^{-5}$ mol/l) noch Elektronenspektren des ursprünglichen Farbproduktes in relativ hoher Konzentration hervorbringt (ε -Wert $\approx$ 35 000).
Die Ursache für diese unterschiedliche Reaktivität ist im Vorhandensein der beiden phenolischen Hydroxylgruppen zu suchen, da der Austausch der n-Pentyl-Seitenkette gegen eine Methylgruppe am Aromaten allein keinen so ausgeprägten Effekt hervorrufen dürfte.

7. Theorie der Farbreaktion und Ableitung eines hypothetischen Farbproduktes

Durch die vorangegangenen Versuche konnte geklärt werden, daß der rote Farbstoff aus der Reaktion eines aus CBD entstandenen Cyclohexenylcarbenium-Ions mit p-DMAB stammen muß.

Dies erscheint zunächst ungewöhnlich, da es sich bei beiden Reaktionspartnern um starke Elektrophile handelt. Bei genauerer Betrachtung der Strukturelemente des Carbenium-Ions stellt man jedoch fest, daß dieses sehr wohl zwei mögliche Angriffspunkte für ein Elektrophil besitzt.

- Es enthält unverändert einen aromatischen Ring, der die Möglichkeit zur elektrophilen aromatischen Substitution bietet (zum Reaktionsablauf vgl. S.23).
- Jedes Carbenium-Ion ist eine Lewissäure und je nach Struktur auch eine Brönsted-Säure. Bei den untersuchten Carbenium-Ionen können durch Protonenabspaltung in α-Position zur positiven Ladung Diene entstehen, die konjugierte Basen der Carbenium-Ionen darstellen. Aus sterischen Gründen sind folgende Dissoziationsgleichungen denkbar:

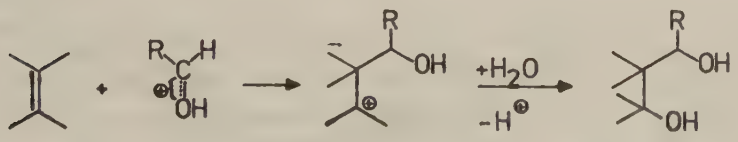


Wie die ^{13}C-NMR-spektroskopischen Untersuchungen der Carbenium-Ionen gezeigt haben, findet ein H-D-Austausch nur an C-7 und C-6 statt, nicht jedoch an C-4. Dies bedeutet, daß in konz. Schwefelsäure nur die endständigen aromatisch substituierten Diene a und b im Gleichgewicht vorhanden sind. Dagegen ist die Existenz des gekreuzt konjugierten Diens c nicht nachzuweisen.

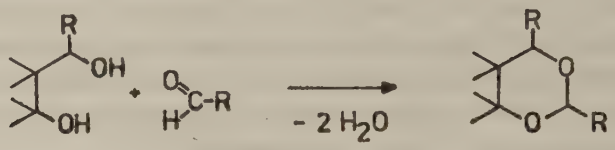
Ein Dien ist als ungesättigtes System dem Angriff eines Elektrophils zugänglich; bekannteste Beispiele für diesen Reaktionstyp sind die Addition von Halogenwasserstoffen, Alkoholen oder Wasser unter Bildung von Halogeniden, Ethern oder Alkoholen, ebenso die Reaktion mit Halogenen, Interhalogenen und unterhalogenigen Säuren, wobei die entsprechenden Dihalogenide und Halogenhydrine entstehen. Bei den genannten Reaktionen erfolgt als Primärschritt die Anlagerung eines Protons oder Halogenkations unter Bildung eines Carbenium-Ions. Weniger bekannt, jedoch ohne weiteres verständlich, ist, daß sich auch andere, von der aromatischen Substitution bekannte Elektrophile an eine isolierte Doppelbindung addieren lassen.

Der Spezialfall der Addition eines Aldehyds an eine Doppelbindung wurde bereits im Jahr 1899 von KRIEWITZ[39] beschrieben, etwa 20 Jahre später von H.J.PRINS im einzelnen untersucht und ging als KRIEWITZ-PRINS-Reaktion[40] in das Schrifttum ein.

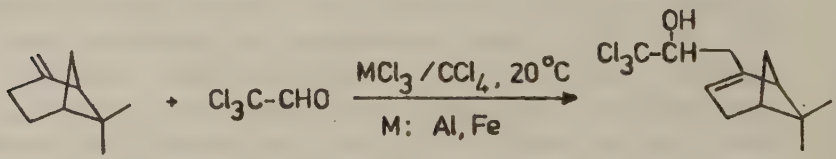
Um die Reaktivität des Aldehyds zu erhöhen, wird die Reaktion üblicherweise in wäßrigen Mineralsäuren durchgeführt. Unter diesen Bedingungen hat das im Primärschritt entstandene Kation die Möglichkeit, sich durch Wasseraufnahme zum Diol zu stabilisieren



und durch weitere Reaktion mit einem zweiten Aldehydmolekül ein cyclisches Vollacetal zu bilden.



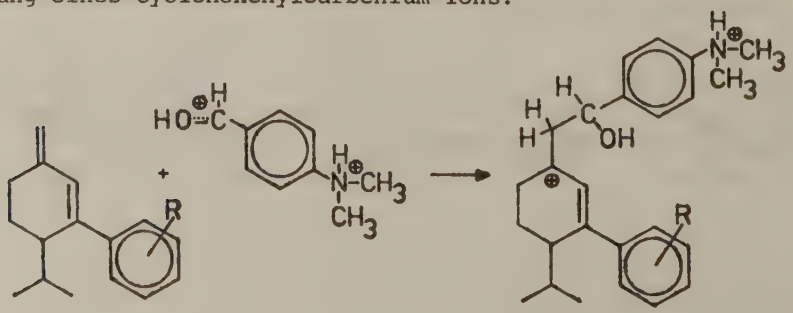
In selteneren Fällen werden auch Lewissäuren anstelle von Mineralsäuren als Katalysatoren verwendet. Ein Beispiel findet sich bei GILL[41].



In diesem Fall kann sich das zuerst entstandene Kation in Ermangelung eines geeigneten Nucleophils nur durch Abspaltung eines α-ständigen Protons stabilisieren, und es entsteht ein ungesättigter Alkohol.

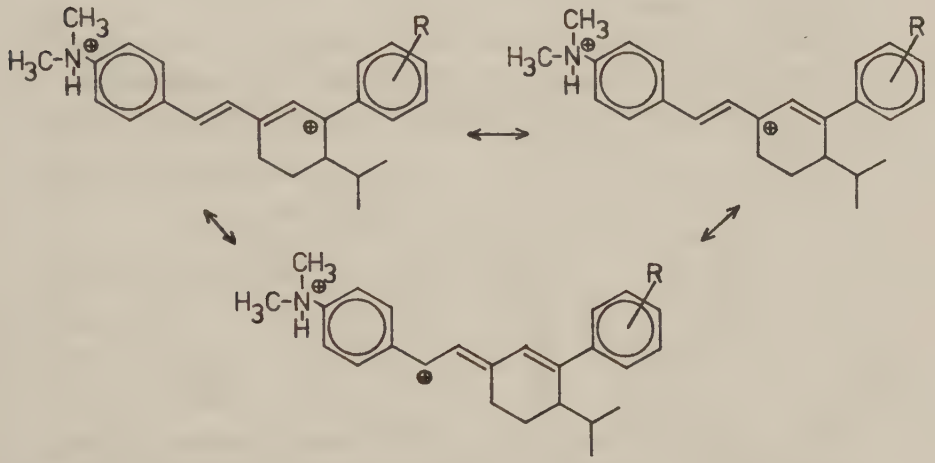
Da in der hier untersuchten Umsetzung eines Cyclohexenylcarbenium-Ions mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure ebenfalls kein Wasser als starkes Elektrophil zur Verfügung steht, sondern die konz. Säure noch als wasserabspaltendes Agens wirkt, läßt sich folgender Reaktionsablauf postulieren:

1.Schritt: Angriff des aktivierten Aldehyds an der endständigen Doppelbindung des in geringer Konzentration im Gleichgewicht mit dem Kation vorliegenden Diens unter Bildung eines Cyclohexenylcarbenium-Ions.

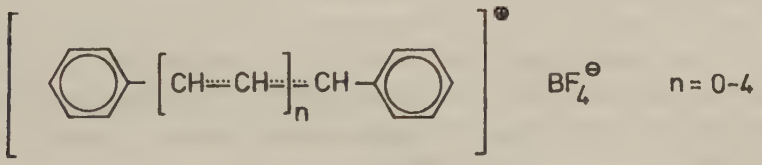


2.Schritt: Abspaltung der Hydroxylgruppe nach Protonierung mit nachfolgender oder vorangegangener Eliminierung eines Protons.

Dadurch entsteht ein Dienylcarbenium-Ion, dessen positive Ladung durch Delokalisierung über ein zusätzliches C-Atom weiter stabilisiert ist. Überdies ist das entstandene Dienylcarbenium-Ion an beiden Enden des Enyl-Systems aromatisch substituiert, wodurch sich ebenfalls ein Stabilitätszuwachs ergibt.



Über Polymethin-Carbeniumsalze, die zwischen 2 Arylresten eine Polyenylkette von 1 bis 9 C-Atomen tragen, berichtete HAFNER[42] im Jahr 1961.

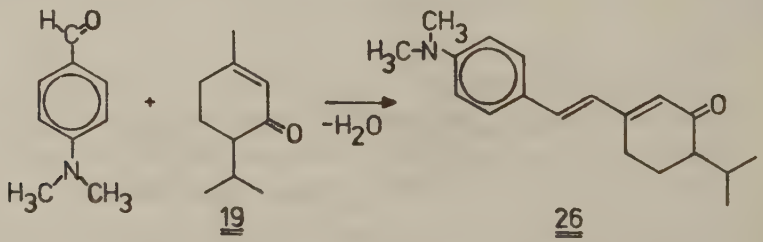


Die Salze sind bei Zimmertemperatur nur kurze Zeit beständig und reagieren leicht mit nucleophilen Agentien. Ihre Stabilität nimmt mit zunehmender Kettenlänge zu. Für das Farbsalz mit n=2, dessen Chromophor dem des als farbgebende Komponente der GHAMRAWY-Reaktion postulierten Dienylcarbenium-Ions entspricht, wird ein Absorptionsmaximum von 555 nm angegeben.

8. Synthese und Eigenschaften von Vorstufen der postulierten Farbprodukte

8.1 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-1-cyclohexen-3-on (26)

Um das Verhalten und die Eigenschaften der als Reaktionsprodukte postulierten Dienylcarbenium-Ionen mit den in der GHAMRAWY-Reaktion entstehenden Farbprodukten vergleichen zu können, wurde eine Synthese der entsprechenden Vorläuferalkohole angestrebt.
p-DMAB und Piperiton wurden unter Katalyse von Natriumalkoholat umgesetzt, um in einer vinylogen Aldolkondensation ein Dimethylaminostyryl-substituiertes Cyclohexenon zu erhalten[43].



19 26

Das IR-Spektrum des gelben Kondensationsproduktes 26 (Abb.37) zeigt die im Vergleich zum Piperiton nur wenig (-5 cm^{-1}) verschobene Carbonylabsorption eines α,β-ungesättigten Ketons bei 1660 cm^{-1}. Zusätzlich treten hier die starken Absorptionen eines Diensystems auf, das mit einem Aromaten in Konjugation steht ($\nu_{C=C}$ 1620 und 1595 cm^{-1}) sowie die der aromatischen Doppelbindungen (1500 cm^{-1}). Bei 820 cm^{-1} ist die Deformationsschwingung des p-substituierten Aromaten zu sehen, bei 960 cm^{-1} die Deformationsschwingung zweier trans-ständiger Protonen an einer Doppelbindung.

Im Massenspektrum (Abb.38) zeigt das Molekül-Ion bei m/e 283, daß bei der Umsetzung eine Wasserabspaltung eingetreten ist. Die hohe Intensität dieses Signals ist auf die Mesomeriestabilisierung des entstandenen Radikalkations über ein zwischen zwei Hetero-Atomen liegendes konjugiertes System zurückzuführen.

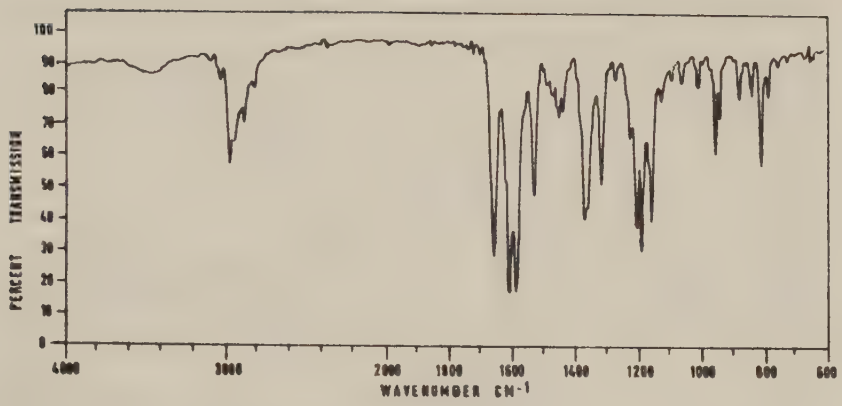


Abb.37: IR-Spektrum von 26

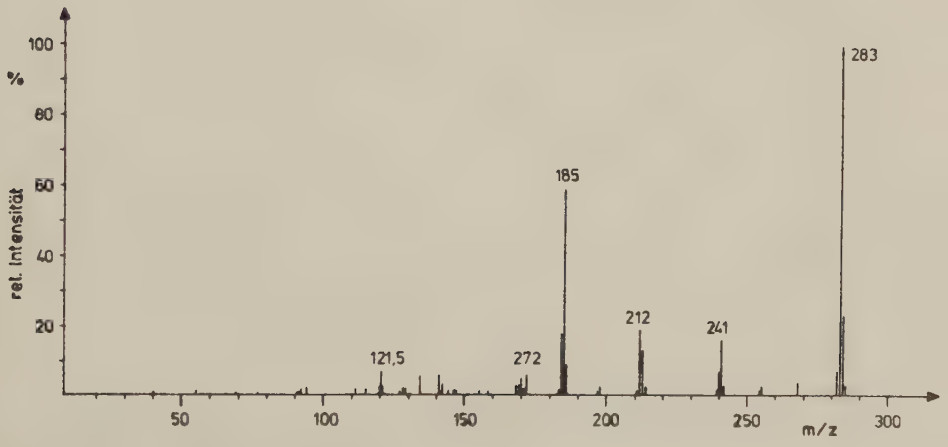


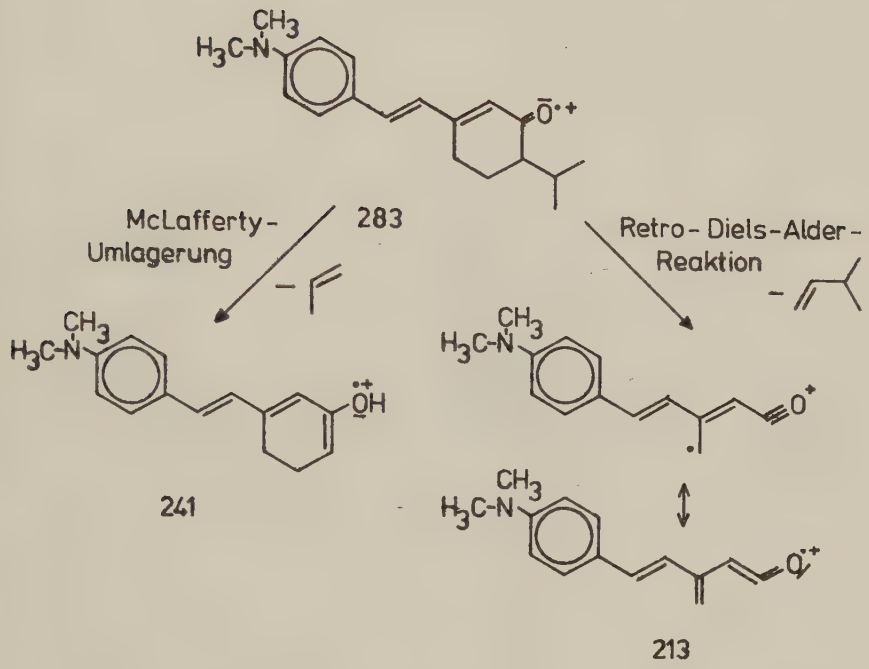
Abb.38: Massenspektrum von 26

Tab.10: Zuordnung der Fragment-Ionen aus 1-p-Dimethylamino-styryl-4-isopropyl-1-cyclohexen-3-on (26)

m/e	%	M - x	Zuordnung
284	23	M + 1	
283	100	$M^{+\cdot}$	Molekülion
282	8	M - 1	
268	2,5	M - 15	- Methylradikal ($-CH_3^{\cdot}$)
255	3	M - 28	- Ethen ($-CH_2=CH_2$)
254	2	M - 29	- Ethylradikal ($-CH_3-CH_2^{\cdot}$)
242	3	M - 41	
241	17	M - 42	- Propen ($-CH_2-CH=CH_2$) durch McLafferty-Umlagerung
240	8	M - 43	- Propylradikal ($-C_3H_7^{\cdot}$)
239	2,5	M - 44	- Propan ($-C_3H_8$) oder - Dimethylaminradikal ($-N(CH_3)_2^{\cdot}$)
214	2,5	M - 69	- Penten durch RDA aus M + 1
213	13	M - 70	- Penten durch RDA-Reaktion
212	18	M - 71	- Pentylradikal ($-C_5H_{11}^{\cdot}$)
186	10	M - 97	
185	58	M - 98	
184	18	M - 99	
141,5	1,2		doppelt geladenes Molekülion
111,5	1,4		
92,5	1,4		doppelt geladenes Fragmention der Masse 185
91,5	1,4		

161 und 204 metastabile Peaks (?)

Zerfallsreaktionen von 26



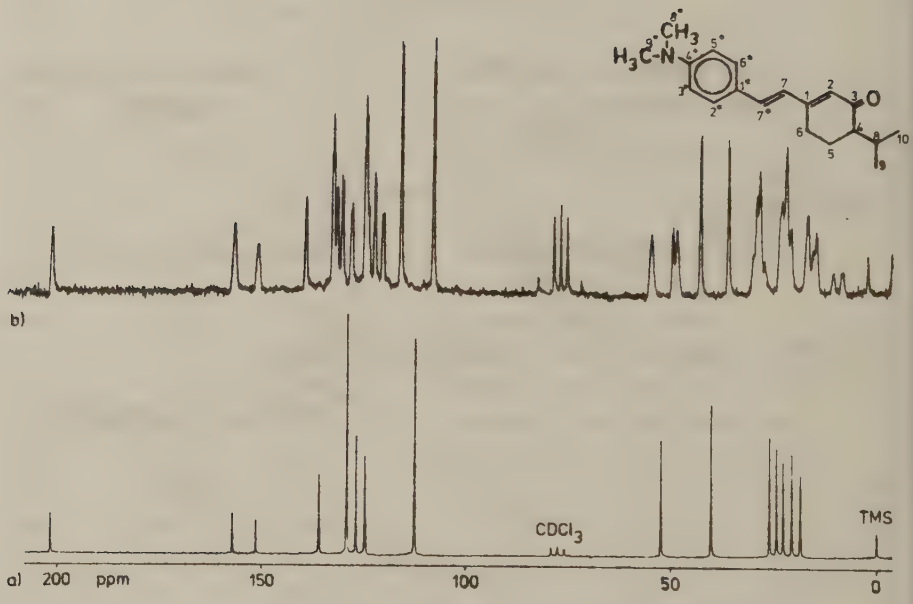


Abb.39a,b: ^{13}C-$\{^1H\}$-NMR-Spektren von 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-1-cyclohexen-3-on (26) in $CDCl_3$, bezogen auf TMS als internen Standard
a) breitbandentkoppeltes Spektrum
b) alternierend gepulstes Doppelresonanzspektrum

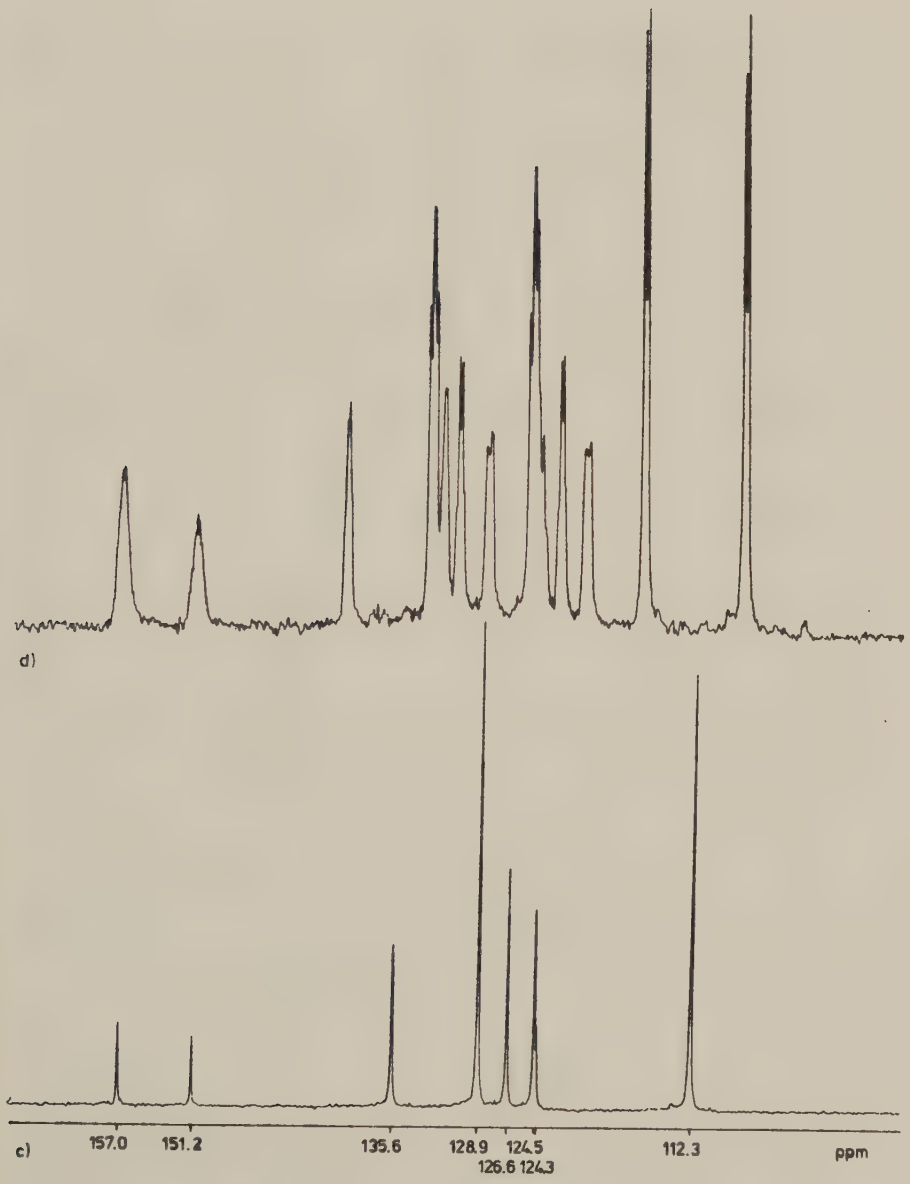


Abb.39c,d: c) gespreizter Aromatenteilbereich von a)
d) gespreizter Aromatenteilbereich von b)

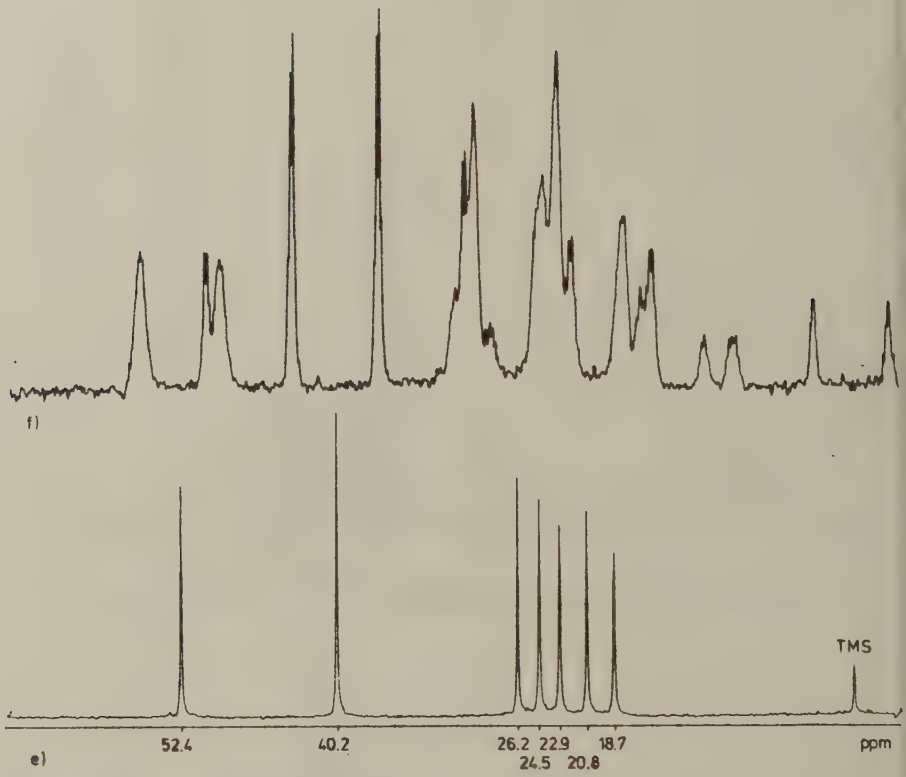
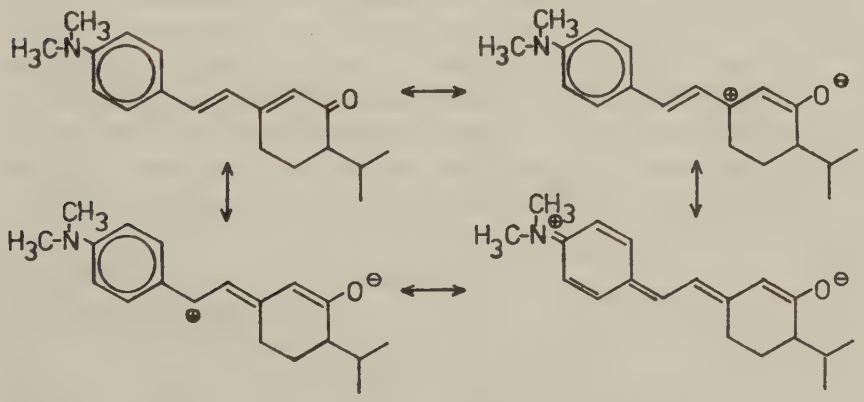


Abb.39e,f: e) gespreizter Aliphatenteilbereich von a)
f) gespreizter Aliphatenteilbereich von b)

Die ^{13}C-NMR-Spektren (Abb.39) bestätigen, daß bei der Reaktion von Piperiton und p-DMAB ein Kondensationsprodukt entstanden ist. Bei 201.7 ppm ist das Carbonyl-Signal eines α,β-ungesättigten Ketons zu erkennen, während das Aldehyd-Signal verschwunden ist. C-2*,6* und C-3*,5* des DMA-Aromaten sind durch ihre doppelte Intensität gekennzeichnet und lassen sich durch Inkrementberechnung leicht zuordnen. Fernkopplung von C-3* mit 5*-H bzw. C-5* mit 3*-H führt zu einer Ferndublettaufspaltung, während C-2* und C-6* zusätzlich zur m-Kopplung mit 6*-H bzw. 2*-H noch vicinal mit 7*-H koppeln, so daß ein Ferndoppeldublett entsteht, welches als Ferntriplett zu erkennen ist. Die zwei Singulett-Signale bei tiefem Feld gehören zu C-4* und C-1; da sie an ihrer Fernkopplung nicht zu unterscheiden sind, wird die Zuordnung durch Inkrementberechnung und Vergleich mit Modellsubstanzen getroffen. So erscheint C-4* hier bei 151.2 ppm, im Vergleich zu p-DMAB um 4.4 ppm zu höherem Feld verschoben, bedingt durch den Wegfall des starken -M-Effekts der Aldehydgruppe. C-1 tritt im Vergleich zu Piperiton um 2.5 ppm zu höherem Feld verschoben bei 157.0 ppm in Resonanz. Dies ist erklärbar durch das Hinzukommen einer weiteren konjugierten Doppelbindung, die eine Delokalisierung der positiven Teilladung auch auf C-7* und den DMA-Aromaten ermöglicht.



Wohl aus demselben Grund ergibt die Inkrementberechnung für C-1* eine relativ große Abweichung von 2.8 ppm gegenüber dem gemessenen Wert. Die Zuordnung von 124.3 ppm zu C-1* ist jedoch gesichert, weil es sich im fraglichen Verschiebungsbereich um das einzige Singulett handelt. Die verbleibenden drei Dublett-Signale im aromatischen Bereich beweisen den Angriff des p-DMAB an C-7 und nicht an C-6 des Piperitons, da im letzteren Fall ein Singulett- und zwei Dublett-Signale vorhanden sein müßten.
Das Dublett bei 135.6 ppm zeigt eine Ferndublettaufspaltung und paßt damit zu C-7*, welches eine geminale Kopplung mit 7-H aufweist. Daß es nicht - wie aufgrund der oben beschriebenen Mesomerie zu erwarten wäre - bei tieferem Feld als im Styrol (138.7 ppm) in Resonanz tritt, ist durch eine abschirmende Wechselwirkung (γ-Effekt) mit den Protonen an C-6 des Cyclohexenringes zu erklären. C-7 koppelt geminal mit 7*-H und vicinal mit einer etwas größeren Kopplungskonstante mit 2-H, so daß ein Doppeldublett resultiert, während C-2 nur eine vicinale Kopplung mit 7-H zeigt. Folglich ist das Signal bei 126.6. ppm C-2, das bei 124.7 ppm C-7 zuzuordnen.
An ihrer Quartettaufspaltung und doppelten Intensität leicht zu erkennen erscheinen die N-Methylgruppen bei 40.9 ppm; ebenso deutlich abgesetzt zeigt sich das Dublett von C-4 bei 52.4 ppm. Die beiden Quartetts der Isopropylgruppe treten bei 20.8 und 18.7 ppm in Resonanz, das zugehörige Dublett bei 26.2 ppm. Im Vergleich zu Piperiton erscheint eines der Triplett-Signale um 4.8 ppm hochfeldverschoben. Dies kann nur für C-6 der Fall sein, erklärbar durch den bereits erwähnten γ-Effekt mit 7*-H, so daß das Signal bei 24.5 ppm zu C-6 paßt, während 22.9 ppm C-5 zuzuordnen ist.

Tab.11: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen des Kondensationsprodukts 26 aus der Reaktion von p-DMAB mit Piperiton in $CDCl_3$ bezogen auf TMS als internen Standard

ppm	Multiplizität	J_{C-H} [Hz]	Zuordnung
201.7	S		C-3
157.0	S_m		C-1
151.2	S_m		C-4*
135.6	D	156 mit 7*-H	C-7*
	d	2 mit 7-H	
128.9	D	162 mit 2*-H bzw. 6*-H,	C-2*,6*
	dd	5 mit 6*-H bzw. 2*-H	
(doppelte Intensität)		5 mit 7*-H	
126.6	D	165 mit 2-H	C-2
	d	5 mit 7-H	
124.5	D	158 mit 7-H	C-7
	dd	7 mit 2-H, 2 mit 7*-H	
124.3	S_m		C-1*
112.3	D	162 mit 3*-H bzw. 5*-H	C-3*,5*
	d	5 mit 5*-H bzw. 3*-H	
(doppelte Intensität)			
52.4	D_m	128 mit 4-H	C-4
40.2	Q	140 mit 8*-H_3 bzw. 9*-H_3	C-8*,9*
	q	4 mit 9*-H_3 bzw. 8*-H_3	
(doppelte Intensität)			
26.2	D_m	132 mit 8-H	C-8
24.5	T_m	132 mit 6-H_2	C-6
22.9	T_m	132 mit 5-H_2	C-5
20.8	Q_m	128 mit 9-H_3	C-9$^+$
18.7	Q_m	128 mit 10-H_3	C-10$^+$

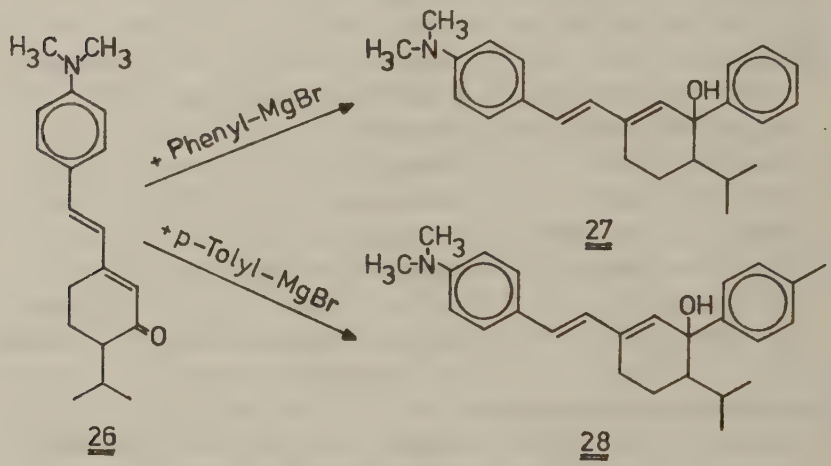
+) Zuordnung paarweise austauschbar

Inkrementberechnungen:

C-...	=	128.5	+	$z_{-N(CH_3)_2}$	+	$z_{-C=CH_2}$	=	...
C-1*	=	128.5	−	11.6	+	10.2	=	127.1
C-2*,6*	=	128.5	+	0.9	−	1.2	=	128.2
C-3*,5*	=	128.5	−	15.7	+	1.0	=	113.8
C-4*	=	128.5	+	22.5	+	0.3	=	151.3

8.2 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-phenyl-1-cyclohexen-3-ol und 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-p-tolyl-1-cyclohexen-3-ol

Das Keton 26 wurde nach GRIGNARD mit Phenyl-Magnesiumbromid bzw. p-Tolyl-Magnesiumbromid umgesetzt, und man erhielt die homologen Alkohole 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-phenyl-1-cyclohexen-3-ol (27) bzw. 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-p-tolyl-1-cyclohexen-3-ol (28).



26 27 28

Die durch Kristallisation gereinigten Alkohole zeigen weitgehend identische IR-Spektren (Abb.40 und 41). Neben der scharfen Absorption der freien O-H-Valenzschwingung bei 3590 cm^{-1} erscheint auch die breite Absorption der assoziierten Hydroxylgruppen von 3600 bis 3300 cm^{-1}. Die Carbonylbande bei 1660 cm^{-1} ist verschwunden, während die starken Valenzschwingungen der Dien- und Aromatendoppelbindungen bei 1620 und 1535 cm^{-1} erhalten geblieben sind.
Neben kleinen Abweichungen in den Gerüst- und Kombinationsschwingungen des fingerprint-Bereichs treten die Hauptunterschiede der beiden Spektren im Bereich der aromatischen

C-H-Deformationsschwingungen auf. Während 27 durch Absorption bei 700 und 760 cm^{-1} die out-of-plane-Schwingungen von 5 benachbarten H-Atomen eines monosubstituierten Aromaten erkennen läßt, zeigt das Tolyl-Derivat 28 eine Bande bei 810 cm^{-1} für den 1,4-substituierten Tolylrest neben der entsprechenden Bande bei 820 cm^{-1} für den 1,4-substituierten DMA-styryl-Rest, die auch im Phenylderivat vorhanden ist. Außerdem besitzen beide Spektren Absorptionen bei 790 und 840 cm^{-1}, die auf isoliertes C-H an einer Doppelbindung, sowie Absorptionen bei 950 cm^{-1}, die auf trans-ständige Protonen an einer Doppelbindung schließen lassen.

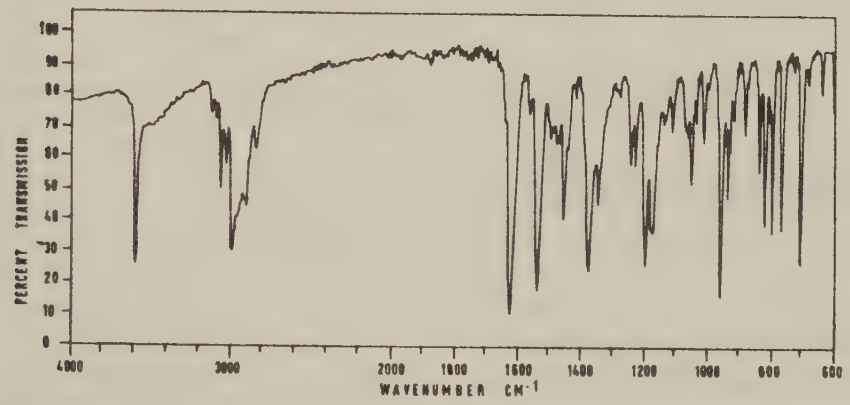


Abb.40: IR-Spektrum von 27

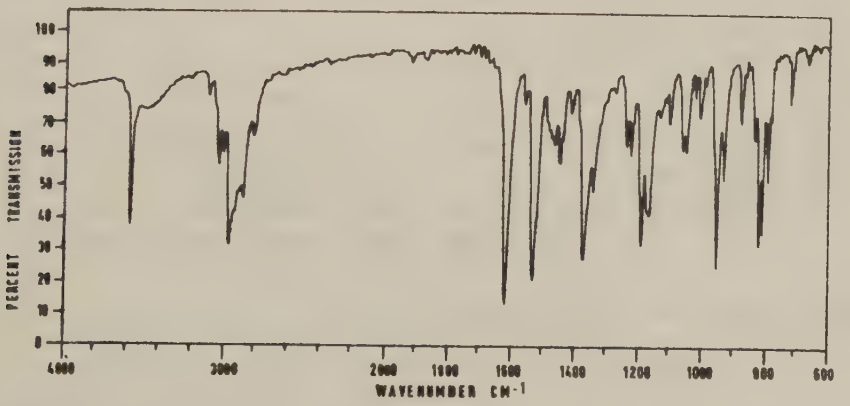


Abb.41: IR-Spektrum von 28

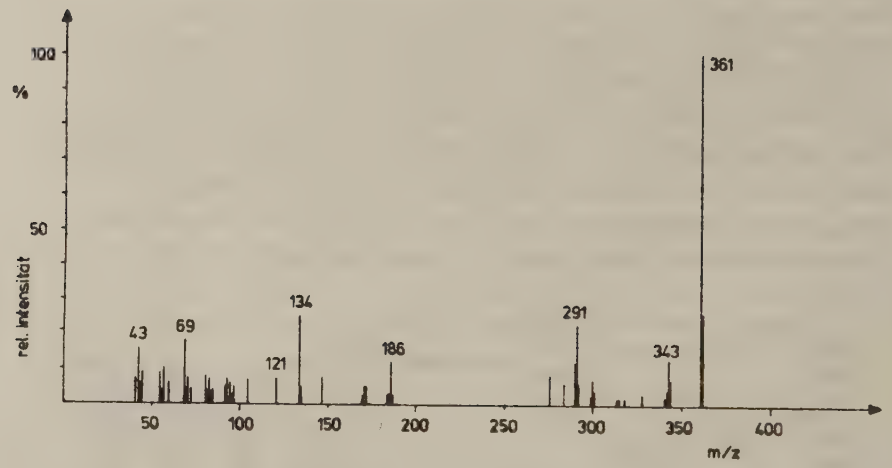


Abb.42: Massenspektrum von 27

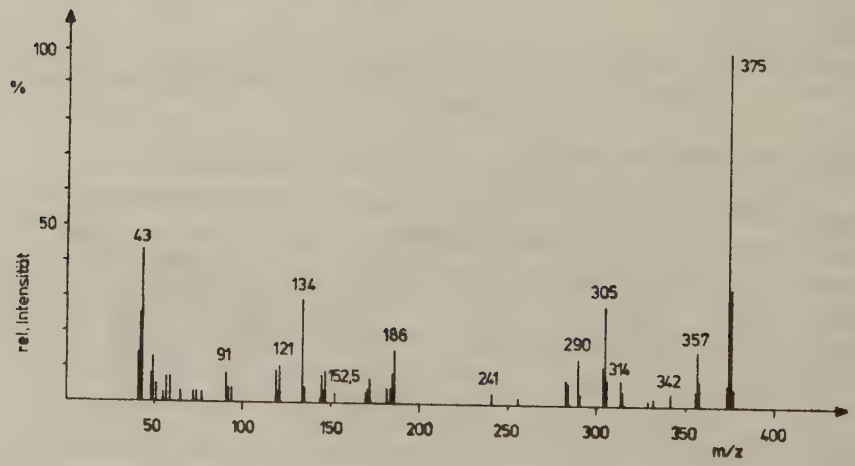


Abb.43: Massenspektrum von 28

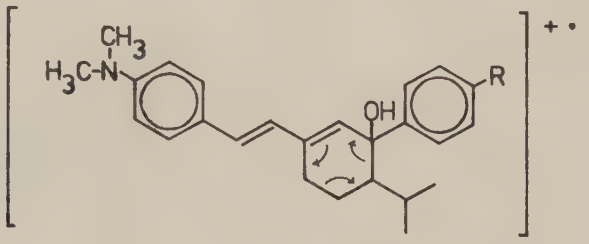
Tab.12: Zuordnung der Fragment-Ionen aus 1-p-Dimethylamino-styryl-4-isopropyl-3-phenyl-1-cyclohexen-3-ol (27)

m/e	%	M - x		Zuordnung
362	26	M + 1		
361	100	$M^{+\cdot}$		Molekül-Ion
344	7	M - 17		- Hydroxylradikal (- OH·)
343	13	M - 18		- Wasser (- H_2O)
342	4	M - 19		- Wasser aus M + 1
328	3	M - 33	(18+15)	- Wasser, - Methylradikal
318	1,6	M - 43		- Propylradikal (- C_3H_7·)
301	4	M - 60	(18+42)	- Wasser, - Propen
300	7	M - 61	(18+43)	- Wasser, -Propylradikal
292	6	M - 69		- Penten durch RDA-Reaktion aus M + 1
291	23	M - 70		- Penten durch RDA-Reaktion
290	12	M - 71		- Pentylradikal (- C_5H_{11}·)
284	6	M - 77		- Phenylradikal (- C_6H_5·)
276	8	M - 85	(70+15)	- Hexylradikal (- C_6H_{13}·) oder - Methylradikal nach RDA-Rkt.
262	(undeutlich)			metastabiler Peak aus der Zerfallsreaktion $291^{+\cdot} \rightarrow 276^{+} + 15\cdot$ m* = 261,8
180,5	1,6			doppelt geladenes Molekül-Ion
145,5	3,4			doppelt geladenes Bruchstück ($C_{20}H_{21}NO^{2+}$) aus RDA-Reaktion
136,5	1,6			

Tab.13: Zuordnung der Fragment-Ionen aus 1-p-Dimethylamino-styryl-4-isopropyl-3-p-tolyl-1-cyclohexen-3-ol (28)

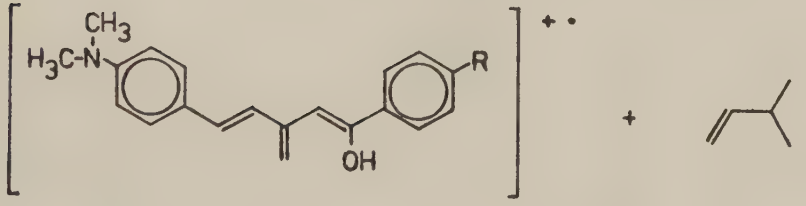
m/e	%	M - x	Zuordnung
376	33	M + 1	
375	100	$M^{+\cdot}$	Molekül-Ion
358	7	M - 17	- Hydroxylradikal (- OH·)
357	15	M - 18	- Wasser
356	4	M - 19	- Wasser aus M + 1
342	3,5	M - 33 (18+15)	- Wasser, -Methylradikal
332	1,8	M - 43	- Propylradikal (- C_3H_7·)
315	4	M - 60 (18+42)	- Wasser, - Propen (- H_2O, - C_3H_6)
314	7	M - 61 (18+43)	- Wasser, - Propylradikal
306	7	M - 69	- Penten durch RDA-Reaktion aus M + 1
305	28	M - 70	- Penten druch RDA-Reaktion
304	11	M - 71	- Pentylradikal (- C_5H_{11}·)
291	3	M - 84	- Hexen (- C_6H_{12})
290	13	M - 85 (70+15)	- Hexylradikal (- C_6H_{13}·) oder - Methylradikal nach RDA-Reaktio
285	6	M - 90	
284	7	M - 91	- C_7H_7· (Tolylradikal?)
275-277 Zerfallsreaktion		$305^{+\cdot} \rightarrow 290^{+} + 15^{\cdot}$	metastabiler Peak aus der m* = 275,7
187,5	1,0	doppelt geladenes Molekül-Ion	
152,5	2,2	doppelt geladenes Fragment-Ion ($C_{21}H_{23}NO^{2+}$) aus RDA-Reaktion	
145,5	1,3		
144,5	1,5		

Zerfallsreaktionen von
1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-phenyl-1-cyclohexen-3-ol (27) und
1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-p-tolyl-1-cyclohexen-3-ol (28)



361 R = H
{375} R = CH_3

Retro-Diels-Alder-Reaktion



291
{305}

70

$-CH_3^{\bullet}$

$[C_{19}H_{18}NO]^+$ 276

$\{[C_{20}H_{20}NO]^+\}$ {290}

Die ^{13}C-NMR-Spektren des 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-phenyl-1-cyclohexen-3-ol (27) werden durch Vergleich mit 3-Phenyl-1-p-menthen-3-ol (21) und 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-1-cyclohexen-3-on (26) zugeordnet.

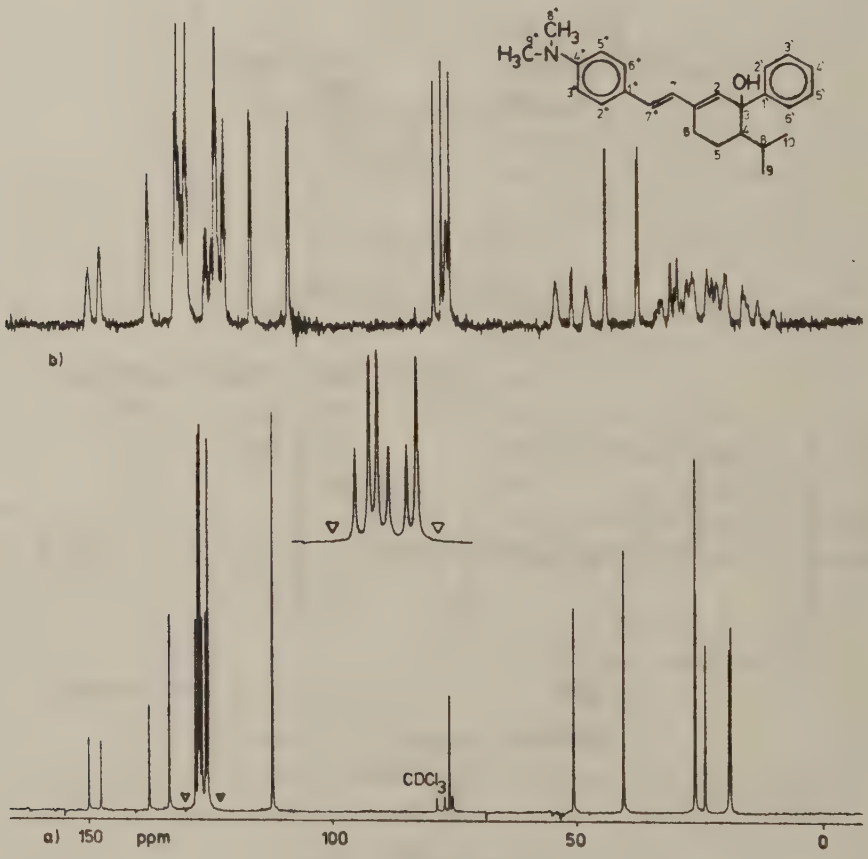


Abb.44a,b: ^{13}C-{^1H}-NMR-Spektren von 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-phenyl-1-cyclohexen-3-ol (27) in $CDCl_3$
a) breitbandentkoppeltes Spektrum
b) alternierend gepulstes Doppelresonanzspektrum

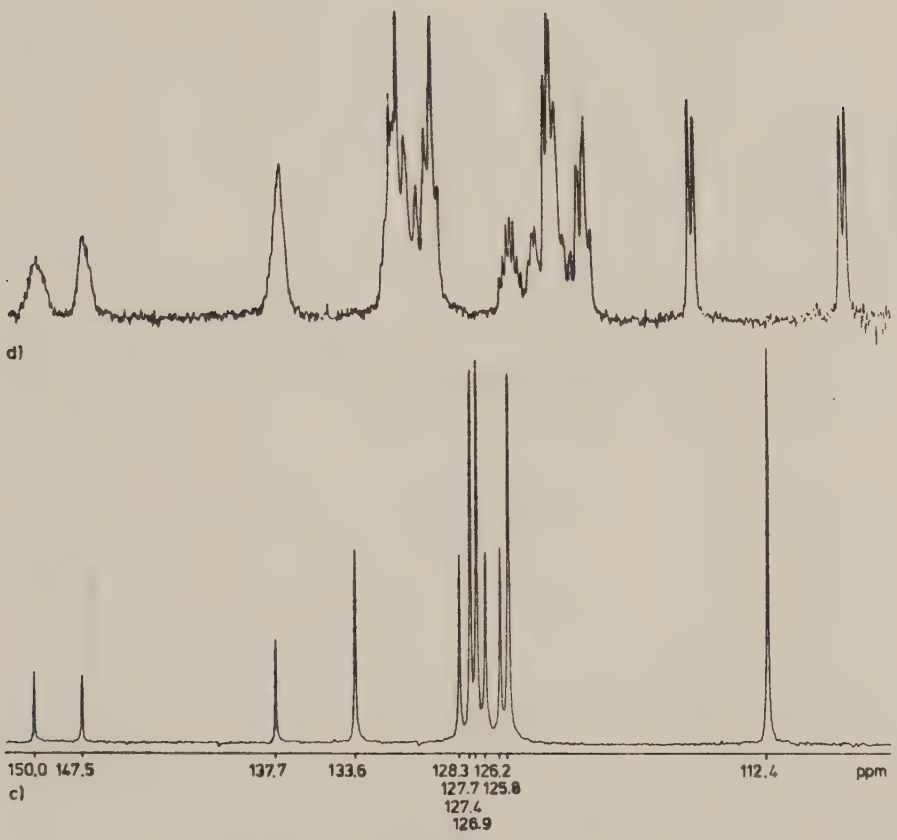


Abb.44c,d: c) gespreizter Aromatenteilbereich von a)
d) gespreizter Aromatenteilbereich von b)

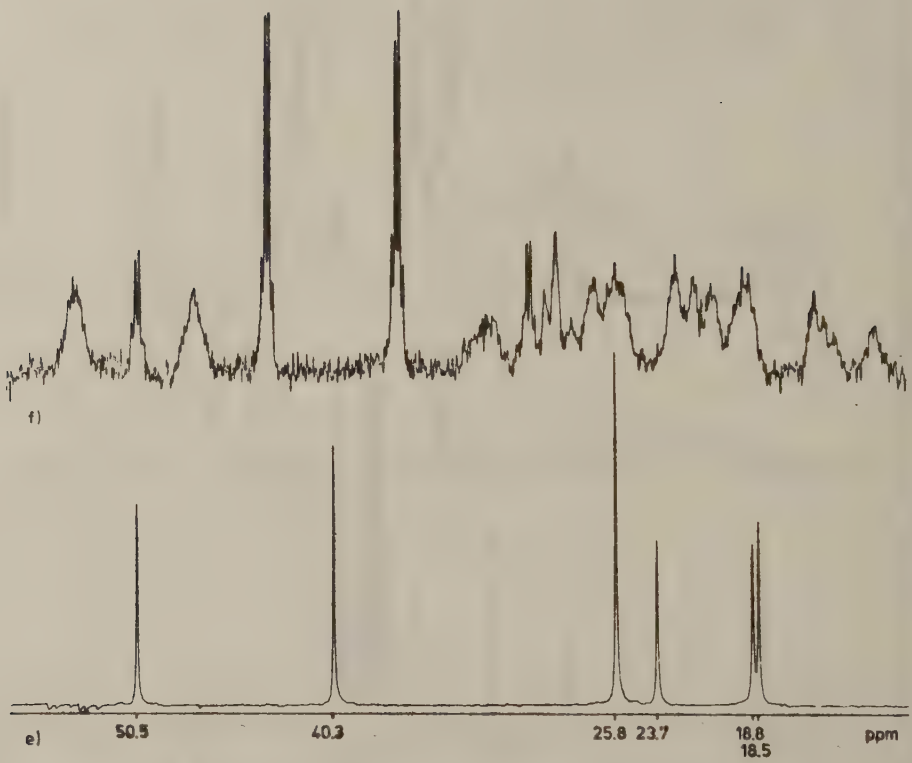


Abb.44e,f: e) gespreizter Aliphatenteilbereich von a)
f) gespreizter Aliphatenteilbereich von b)

Im Aromatenbereich zeigen sich 11 Signale, von denen 3 Signale die doppelte und 1 Signal die dreifache Intensität aufweisen.
Die Signale bei 150.0 und 147.5 ppm geben sich im gekoppelten Spektrum als Singuletts von Fernmultipletts zu erkennen und passen zu C-4* und C-1'. Da eine genauere Zuordnung aufgrund des Aufspaltungsmusters nicht möglich ist, muß diese durch Vergleichsverbindungen getroffen werden:

Die Resonanz bei 147.5 ppm paßt somit zu C-1' (welches im 3-Phenyl-1-menthen-3-ol (21) bei 148.0 ppm in Resonanz tritt) und das Signal bei 150.0 gehört zu C-4*.
Zwei weitere Singuletts zeigen sich bei 137.7 ppm und 125.8 ppm und lassen sich ebenfalls durch Verschiebungsvergleich zu C-1 und C-1* zuordnen. Die restlichen Resonanzen im Aromatenbereich spalten im gekoppelten ^{13}C-NMR-Spektrum zu Dubletts auf. C-2',6' und C-3',5' absorbieren mit doppelter Intensität - gegenüber 21 unverändert - bei 125.8 ppm (Ferntriplett mit 6 Hz) und bei 127.7 ppm (Ferndublett mit ca. 6 Hz). C-4' tritt ebenfalls unverändert bei 126.2 ppm in Resonanz. Die übrigbleibenden Signale doppelter Intensität gehören zu C-2*,6* (127.4 ppm, Dublett mit 160 Hz von Ferndubletts) und zu C-3*,5* (112.6 ppm, Dublett mit 158 Hz von Ferndubletts mit 5 Hz), welches sich durch starken +M-Effekt der Dimethylaminogruppe zu höherem Feld absetzt.
Die restlichen Signale im Aromatenbereich gehören zu den Dien-Kohlenstoffen, wobei C-7* aufgrund seiner direkten Nachbarschaft zum Aromaten tieffeldverschoben bei 133.6 ppm in Resonanz tritt.
Kaum verändert erscheinen auch das mit der Hydroxylgruppe verknüpfte Kohlenstoffatom 3 bei 76.1 ppm, sowie das ihm benachbarte C-4 bei 50.5 ppm. Das Signal bei 40.3 ppm, gekennzeichnet durch seine Aufspaltung in ein Quartett von Fernquartetts, gehört eindeutig zu den N-Methylgruppen.
Die doppelte Intensität des Signals bei 25.8 ppm weist darauf hin, daß zwei der aliphatischen Kohlenstoffe hier zusammenfallen; das gekoppelte Spektrum zeigt, daß es sich um das - im Vergleich zu 21 unveränderte - Dublett von C-8 sowie um das Triplett einer der Ring-Methylengruppen handelt. Da das andere Triplett wenig verändert bei 18.8 ppm (19.3 ppm in 21) erscheint, muß es sich um das Signal von C-6 handeln. Seine Hochfeldverschiebung um 5.8 ppm (gegenüber 21) läßt sich durch einen γ-Effekt mit 7*-H, dem Proton der Styryl-Doppelbindung, erklären, was gleichzeitig die trans-Stellung der Doppelbindungen bestätigt.
Wie in allen untersuchten am C-3 aromatisch substituierten Menthen-3-olen unterscheiden sich die beiden Methylgruppen des Isopropylrestes deutlich, hier um 5.2 ppm.

Tab.14: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen des 1-p-Dimethylamino-styryl-4-isopropyl-3-phenyl-2-cyclohexen-3-ol (27) in $CDCl_3$

ppm	Multiplizität	J_{C-H} [Hz]	Zuordnung
150.0	S_m		C-4*
147.5	S_m		C-1'
137.7	S	verdeckt	C-1
133.6	D	154 mit 7*-H	C-7*
	?	verdeckt	
128.3	D	152 mit 2-H	C-2$^+$
	dd	6,3 mit 7-H und 6-H	
127.7	D	158 mit 3'-H bzw. 5'-H	C-3',5'
	d	7 mit 5'-H bzw. 3'-H	
(doppelte Intensität)			
127.4	D	160 mit 2*-H bzw. 6*-H	C-2*,6*
	d ?	verdeckt	
(doppelte Intensität)			
126.9	D_m	152 mit 7-H	C-7$^+$
126.2	D_m	158 mit 4'-H	C-4'
125.8	D	160 mit 2'-H bzw. 6'-H	C-2',6'
	t ?	verdeckt	
(doppelte Intensität)			
125.8	S		C-1*
	d	12 mit 7-H	
	t	6 mit 3*,5*-H_2	
112.4	D	158 mit 3*-H bzw. 5*-H	C-3*,5*
	d	5 mit 5*-H bzw. 3*-H	
(doppelte Intensität)			
76.1	S_m		C-3
50.5	D_m	120 mit 4-H	C-4

Fortsetzung Tab.14

ppm	Multiplizität	J_{C-H} [Hz]	Zuordnung
40.3	Q	131 mit 8*-H_3 bzw. 9*-H_3	C-8*,9*
	q	3 mit 9*-H_3 bzw. 8*-H_3	
(doppelte Intensität)			
25.8	T_m	120 mit 6-H_2	C-6
	D_m	120 mit 8-H	C-8
23.7	Q_m	120 mit 9-H_3	C-9$^{\Delta}$
18.8	T_m	120 mit 5-H_2	C-5
18.5	Q_m	120 mit 10-H_3	C-10$^{\Delta}$

$^{+,\Delta}$) Zuordnung paarweise austauschbar

Die Zuordnungen der ^{13}C-Resonanzen des 1-p-Dimethylamino-styryl-4-isopropyl-3-p-tolyl-2-cyclohexen-3-ol (28) wurden in Anlehnung an die bereits diskutierten Substanzen 27, 20 und 26 getroffen.

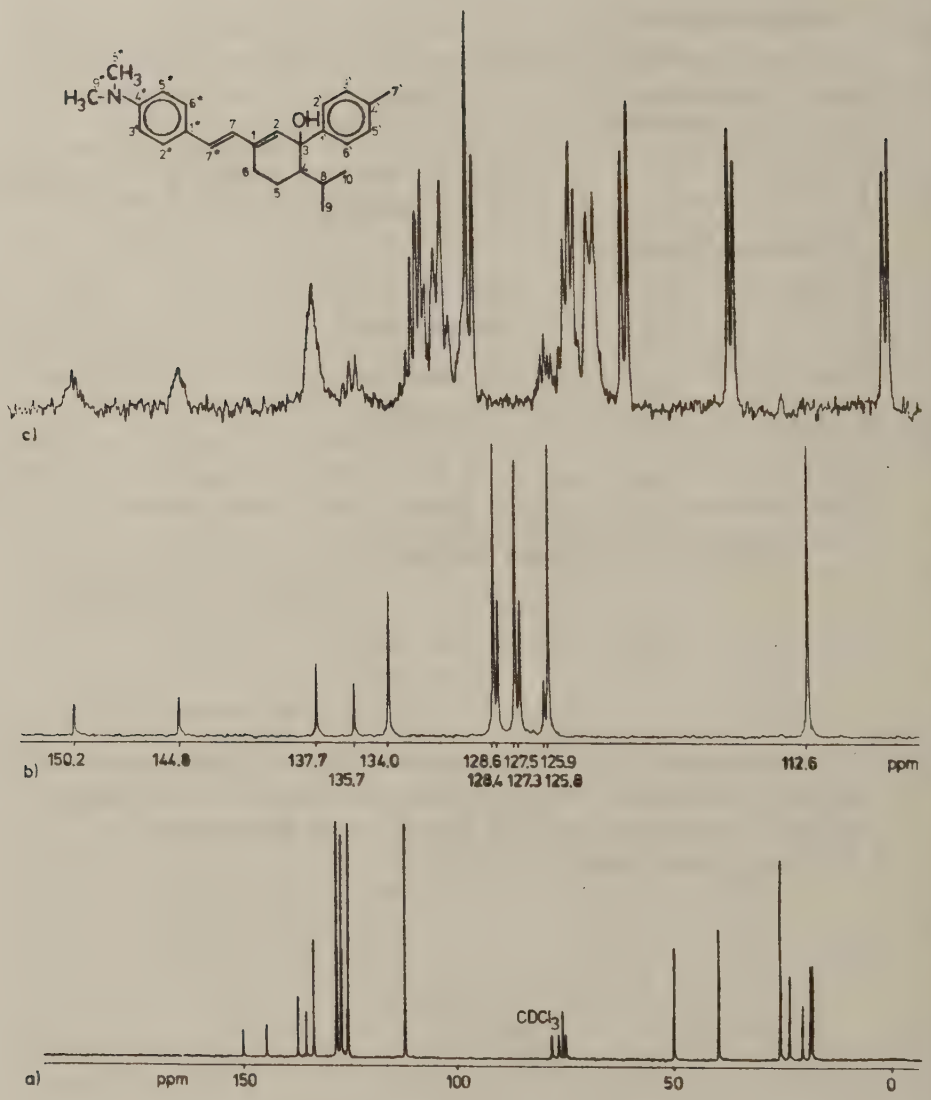


Abb.45a-c: ^{13}C-$\{^1H\}$-NMR-Spektren von 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-p-tolyl-1-cyclohexen-3-ol (28) in $CDCl_3$

a) breitbandentkoppeltes Spektrum

b) Aromatenteilbereich von a)

c) alternierend gepulstes Doppelresonanzspektrum, Aromatenteilbereich

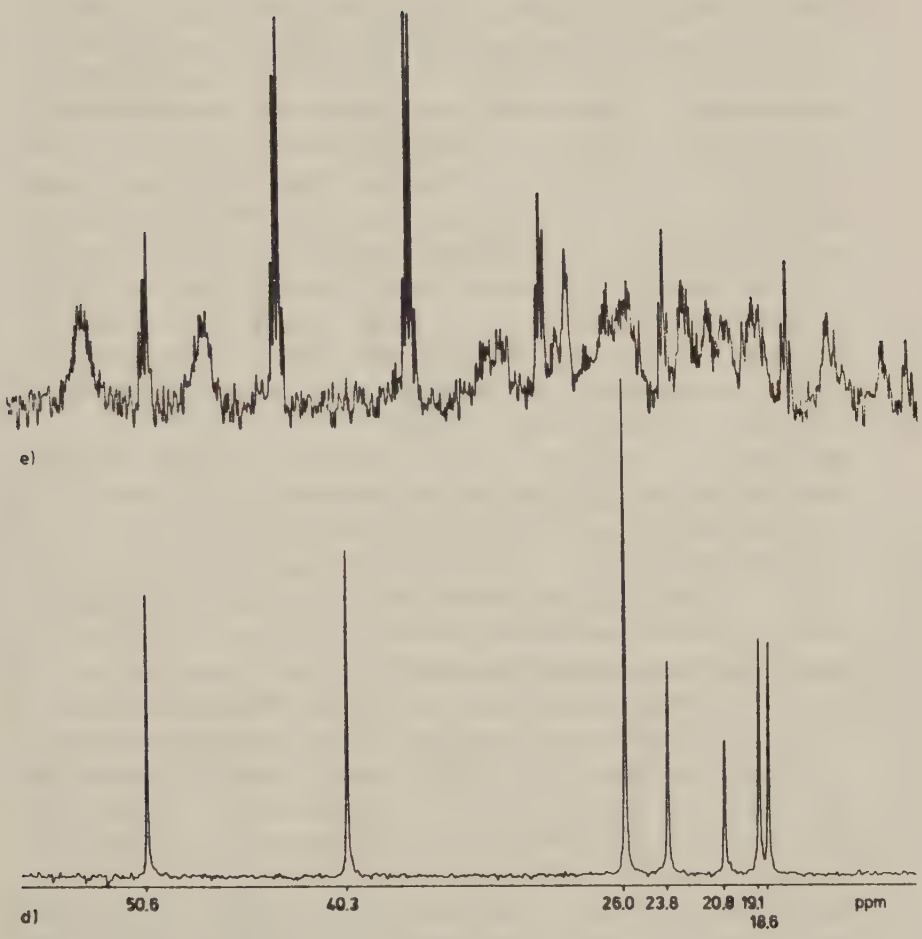


Abb.45d,e: d) Aliphatenteilbereich von a)

e) alternierend gepulstes Doppelresonanzspektrum, Aliphatenbereich

Im Vergleich zu 27 treten Differenzen in der chemischen Verschiebung nur für drei Signale im Aromatenbereich auf (144.8, 135.7, 128.6 ppm, doppelte Intensität), während alle übrigen Resonanzen bei annähernd gleichen Feldstärken erscheinen. So zeigen die Kohlenstoffe des Dimethylamino-styryl-Restes in ihrer Verschiebung Abweichungen, die kleiner als 0.4 ppm sind, und weitgehend identische Kopplungen. Das gleiche gilt für die sechs Cyclohexen-Kohlenstoffe und die Isopropylgruppe. Im Aliphatenbereich erscheint zusätzlich das Quartett der aromatischen Methylgruppe (20.8 ppm), dessen Fernaufspaltung - im Gegensatz zu den komplexen Signalen der Isopropyl-Methylgruppen - ein klares Triplett zeigt, hervorgerufen durch Kopplung mit den m-ständigen Protonen 3'-H und 5'-H.

Der Einfluß dieser Methylgruppe manifestiert sich insbesondere an dem mit C-3 verknüpften Aromaten. So erscheint C-1' um einen Betrag von 2.7 ppm hochfeldverschoben bei 144.8 ppm, was etwa dem p-Methyl-Inkrement (-3.1 ppm) entspricht. C-2',6' erscheinen unverändert bei 125.8 ppm (m-Inkrement = 0), zeigen jedoch - bedingt durch das Fehlen von 4'-H - hier nur eine Ferndublettaufspaltung von 6 Hz durch Kopplung mit 6'-H bzw. 2'-H. Mit 0.9 ppm erfahren C-3',5' hier eine etwas größere Tieffeldverschiebung als einem o-Methyl-Inkrement von 0.6 ppm entspricht. Ihr Dublett-Signal doppelter Intensität bei 128.6 ppm zeigt neben der Fernkopplung mit 5' bzw. 3'-H eine Kopplung mit 7'-H_3, so daß ein Dublett von Quartetts mit dem Aussehen eines Quintetts entsteht.

Den größten Einfluß hat die Methylgruppe auf C-4', das gegenüber 27 um 9.5 ppm zu tiefem Feld verschoben als Singulett bei 135.7 ppm erscheint. Auch hier treten Fernkopplungen nicht nur mit 2' bzw. 6'-H, sondern auch mit den Protonen der Methylgruppe auf.

Tab.15: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen von 1-p-Dimethylamino-styryl-4-isopropyl-3-p-tolyl-2-cyclohexen-3-ol (28) in $CDCl_3$

ppm	Multi-plizität	J_{C-H} [Hz]	Zuordung
150.2	S		C-4*
	m		
144.8	S		C-1'
	m		
137.7	S		C-1
	?	verdeckt	
135.7	S		C-4'
	m	≈ 5 mit 7'-H_3 und 3',5'-H_2	
134.0	D	156 mit 7*-H	C-7*
	m		
128.6	D	158 mit 3'-H bzw. 5'-H	C-3',5'
	dq	≈ 5 mit 3'-H bzw. 5'-H	
(doppelte Intensität)		und 7'-H_3	
128.4	D	158 mit 2-H	C-2^+
	m	verdeckt	
127.5	D	158 mit 2*-H bzw. 6*-H	C-2*,6*
	d	6 mit 2*-H bzw. 6*-H	
(doppelte Intensität)			
127.3	D	158 mit 7-H	C-7^+
	m	verdeckt	
125.9	S		C-1*
	d	≈ 10 mit 7-H	
	t	≈ 5 mit 3*,5*-H_2	
125.8	D	156 mit 2'-H bzw. 6'-H	C-2',6'
	d	6 mit 2'-H bzw. 6'-H	
(doppelte Intensität)			

Fortsetzung Tab.15:

ppm	Multi-plizität	J_{C-H} [Hz]	Zuordnung
112.6	D	156 mit 3*-H bzw. 5*-H	C-3*,5*
	d	5 mit 3*-H bzw. 5*-H	
(doppelte Intensität)			
76.1	S_m		C-3
50.6	D_m	124 mit 4-H	C-4
40.3	Q	132 mit 8*-H_3 bzw. 9*-H_3	C-8*,9*
	q	4 mit 9*-H_3 bzw. 8*-H_3	
(doppelte Intensität)			
26.0	D_m	125 mit 8-H	C-8
	T_m	125 mit 6-H_2	C-6
23.8	Q_m	125 mit 9-H_3	C-9$^{\Delta}$
20.8	Q	124 mit 7'-H_3	C-7'
	t	4 mit 3',5'-H_2	
19.1	T_m	125 mit 5-H_2	C-5
18.6	Q_m	125 mit 10-H_3	C-10$^{\Delta}$

$^{+,\Delta}$) Zuordnungen paarweise austauschbar

8.3 Verhalten der Alkohole gegen Säuren

8.3.1 ^{13}C-NMR-Spektren in konz. Schwefelsäure

Wie bei den Cyclohexenolen 20 und 21 bewirkt die Schwefelsäure auch bei den p-Dimethylaminostyryl-substituierten Alkoholen 27 und 28 eine Wasserabspaltung nach Protonierung, so daß die entsprechenden Carbenium-Ionen entstehen.

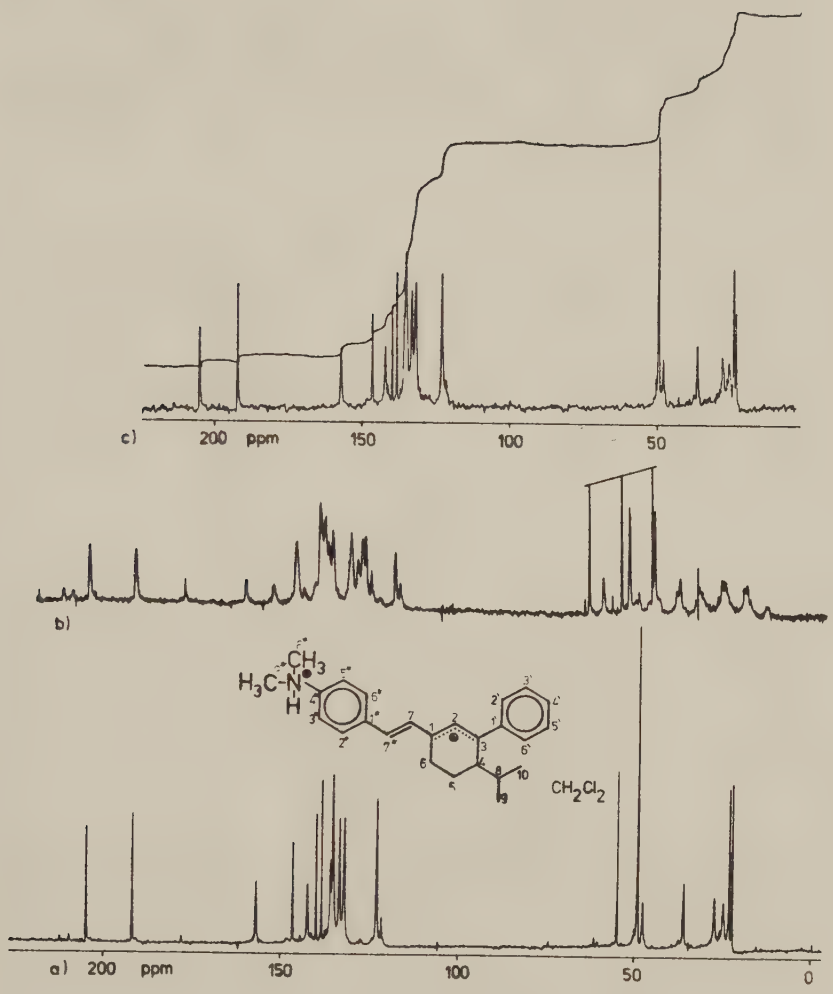


Abb.46a-c: ^{13}C-$\{^1H\}$-NMR-Spektren des 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-phenyl-2-cyclohexenyl-Kations (29) in konz. H_2SO_4/konz. D_2SO_4-Gemisch (1+2)

a) breitbandentkoppeltes Spektrum

b) alternierend gepulstes Doppelresonanzspektrum

c) breitbandentkoppeltes Spektrum ohne Kern-Overhauser-Effekt (invers gated)

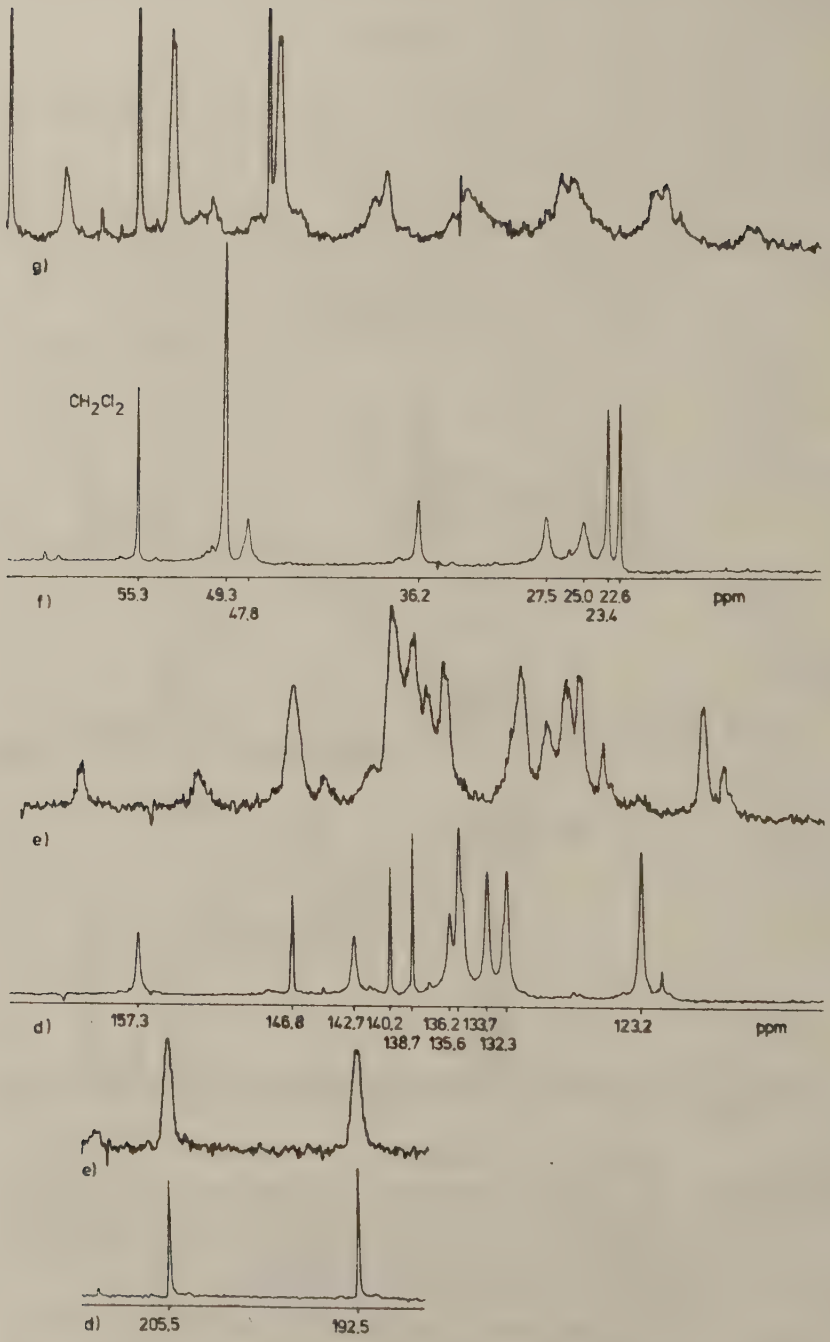


Abb.46d-g: d) gespreizter Aromatenteilbereich von a)
e) gespreizter Aromatenteilbereich von b)
f) gespreizter Aliphatenteilbereich von a)
g) gespreizter Aliphatenteilbereich von b)

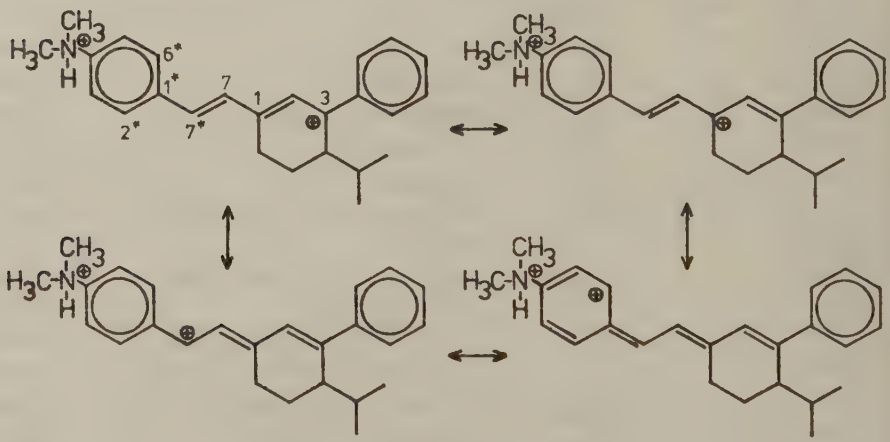
Da die Signalintensitäten im breitbandentkoppelten Spektrum keine eindeutigen Aussagen über die Zahl der unter der jeweiligen Resonanz liegenden Kohlenstoff-Atome erlaubten, wurde hier zusätzlich ein invers gated Spektrum aufgenommen. Dieses bestätigte die Zuordnung der doppelten und dreifachen Intensitäten zu solchen Signalen, die im breitbandentkoppelten Spektrum eine leichte Verbreiterung zeigten.

Tab.16: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen des 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-phenyl-2-cyclohexenyl-Kations (29) in konz. H_2SO_4/konz. D_2SO_4-Gemisch (1+2)

ppm	Anzahl C-Atome	Multiplizität	J_{C-H} [Hz]	Zuordnung
205.5	1	S_m		C-3$^+$
192.5	1	S_m		C-1$^+$
157.3	1	D_m	162 mit 7*-H	C-7*
146.8	1	S	verdeckt	C-4*
142.7	1	D	verdeckt	C-4'
140.2	1	S	verdeckt	C-1'$^\Delta$
138.7	1	S	verdeckt	C-1*$^\Delta$
136.2	1	D_m	162 mit 2-H verdeckt	C-2
135.6	3	D_m	162 mit 2*-H bzw. 6*-H 162 mit 7-H	C-2*,6* C-7
133.7	2	D_m	162 mit 2'-H bzw. 6'-H	C-2',6'
132.3	2	D_m	162 mit 3'-H bzw. 5'-H	C-3',5'
123.2	2	D_m	162 mit 3*-H bzw. 5*-H	C-3*,5*
49.3	2	Q_m	144 mit 8*-H_3 bzw. 9*-H_3	C-8*,9*
47.8	1	D		C-4
36.2	1	D		C-8
27.5	1	?	überlagerungen	C-6
25.0	1	?	$^1J_{C-H}$ 120	C-5
23.4	1	Q		C-9$^\blacktriangledown$
22.6	1	Q		C-10$^\blacktriangledown$

+, Δ, $\blacktriangledown$) Zuordnungen paarweise austauschbar

Im vorliegenden Spektrum können Fernkopplungen kaum als Zuordnungshilfe dienen, da die Signale nur schlecht aufgelöst und teilweise stark überlappend erscheinen. Die aromatischen Kohlenstoffe müssen daher vornehmlich durch Vergleich mit 25, 30 und p-DMAB in konz. Schwefelsäure (Abb.50) identifiziert werden.
Zu tiefem Feld abgesetzt finden sich die typischen Resonanzen für ein aromatisch substituiertes Enylsystem hier bei 205.5 und 192.5 ppm. Im Vergleich zum 3-Phenylmenthenyl-Kation 25 sind diese Kohlenstoffe deutlich abgeschirmt, was auf den zusätzlichen delokalisierenden Effekt des p-Dimethylaminostyryl-Restes hinweist.
Dieser läßt sich durch folgende Grenzformeln beschreiben,



die augenscheinlich machen, daß die Ladung hier nicht nur auf die C-Atome 1 und 3 sowie 2',6' und 4', sondern auch auf C-7* und C-2*,6* verteilt ist.
Dies bewirkt für C-7* im Vergleich zu 25 eine extreme Tieffeldverschiebung um 21.7 ppm nach 157.3 ppm, während das Dublett von C-4' im Vergleich zu 23 um 2.7 ppm zu höherem Feld verschoben bei 142.7 ppm erscheint.

Das ihm benachbarte Signal bei 146.8 ppm muß zu C-4* gehören, da es kein direkt gebundenes Proton besitzt.
Von den Dublett-Signalen doppelter Intensität lassen sich durch Vergleich mit 25 und p-DMAB 123.2 ppm zu C-3*,5* und 132.3 zu C-3',5' zuordnen, da diese von der erweiterten Mesomerie kaum betroffen werden. Im Gegensatz dazu erscheint C-2',6' gegenüber 25 um 1.8 ppm zu 133.7 ppm hochfeldverschoben. Somit muß das Dublett bei 135.6 ppm dem C-2*,6* zugeordnet werden. Die verbleibenden Singulett-Signale bei 140.2 ppm und 138.7 ppm gehören zu den C-Atomen 1' bzw. 1*, die Dubletts bei 136.2 ppm und 135.6 ppm zu C-2 bzw. C-7.
Auch aus 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-p-tolyl-1-cyclohexen-3-ol (28) entsteht in konz. Schwefelsäure durch Protonierung und Wasserabspaltung das entsprechende Cyclohexenylcarbenium-Ion 30.

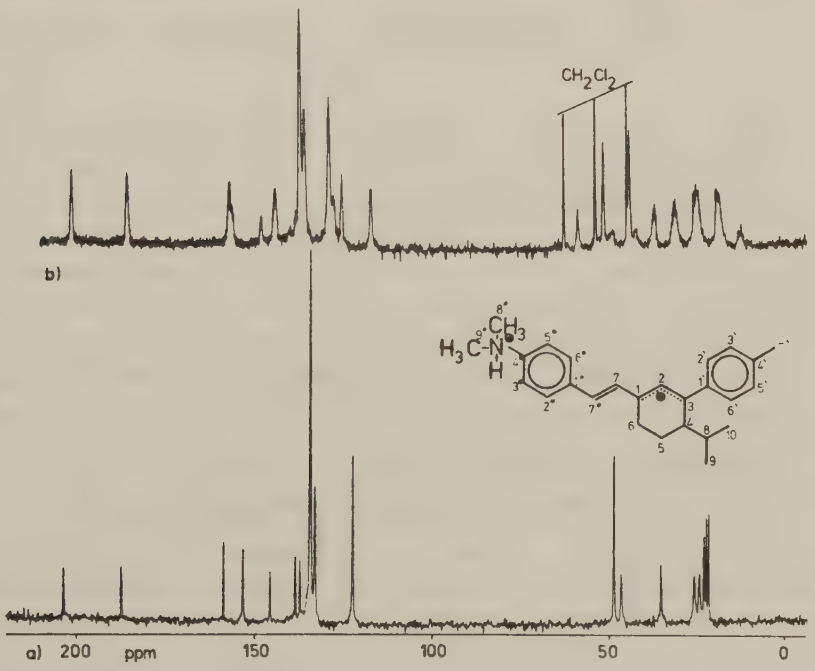


Abb.47a,b: ^{13}C-$\{^1H\}$-NMR-Spektren des 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-p-tolyl-2-cyclohexenyl-Kations(30) in konz. H_2SO_4/ konz. D_2SO_4-Gemisch (0,8+0,5 ml)
a) breitbandentkoppeltes Spektrum
b) alternierend gepulstes Doppelresonanzspektrum

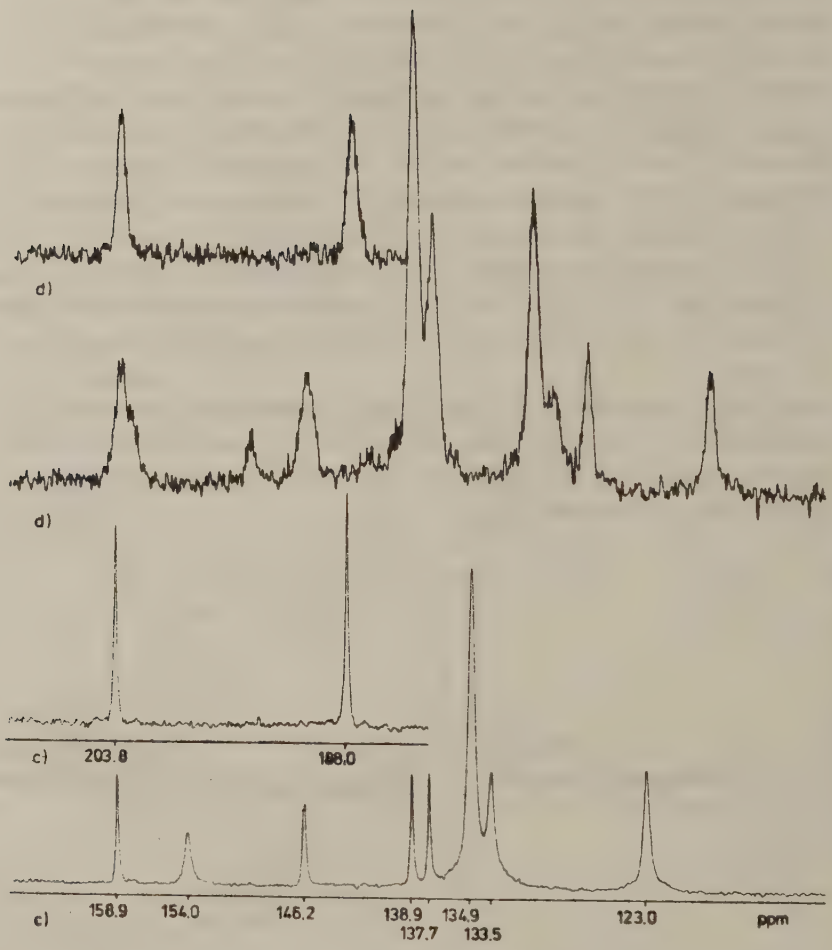


Abb.47c,d: c) gespreizter Aromatenteilbereich von a)
d) gespreizter Aromatenteilbereich von b)

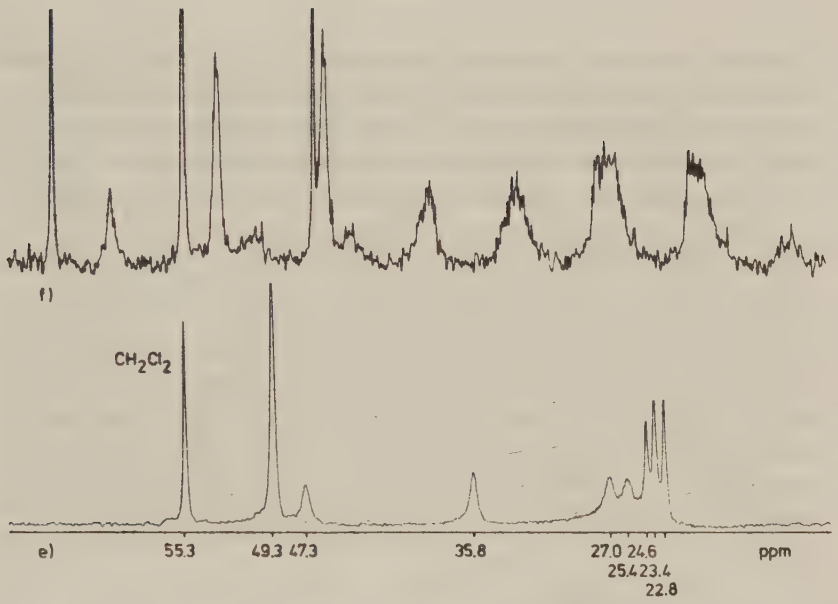
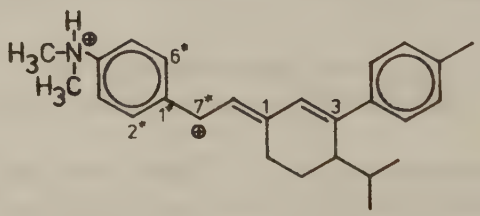


Abb.47e,f: e) gespreizter Aliphatenteilbereich von a)
f) gespreizter Aliphatenteilbereich von b)

Die typischen Resonanzen für ein aromatisch substituiertes Enylsystem treten hier bei 203.8 und 188.0 ppm auf. C-4' des Tolylrestes erscheint wieder bei relativ tiefem Feld, kenntlich an seiner Fernaufspaltung (vgl. dazu die Erläuterungen aus S. 57) bei 158.9 ppm. Dieser Wert liegt um 3.4 ppm bei höherem Feld als im 3-p-Tolyl-2-menthenyl-Kation (22) (162.3 ppm). Ebenfalls zu höherem Feld verschoben erscheinen die Resonanzen für C-2',6', unter dem intensiven Signal bei 134.9 ppm (136.6 ppm in 22), unverändert bleibt das Dublett der C-Atome 3',5' bei 133.5 ppm (133.9 ppm in 22).
Vom neu hinzugekommenen Aromaten geben sich die Kohlenstoffe 3*,5* an ihrer Verschiebung (123.0 ppm, in p-DMAB/D_2SO_4 : 123.5 ppm), der doppelten Intensität ihres Signals und ihrer Fernkopplung mit jeweils einem m-Proton zum Ferndublett,

überlagert durch kleinere Kopplungen mit o- und p-Protonen zu erkennen. Das Signal bei 146.2 ppm paßt aufgrund seiner Verschiebung (p-DMAB/D_2SO_4 : 149.5 ppm) und Fernkopplung zu C-4*; das doppelt intensive Dublett von C-2*,6* muß unter dem sehr intensiven Signal bei 134.9 ppm liegen.

Von den verbleibenden Signalen gehören die Singuletts bei 138.9 und 137.7 ppm zu C-1' bzw. C-1*. Eine genauere Zuordnung ist hier nicht möglich, weil eventuell vorhandene Fernkopplungen durch Überlappung mit anderen Signalen im gekoppelten Spektrum nicht zu erkennen sind, und die Verschiebungsdifferenz so klein ist, daß sie keine theoretische Aussage ermöglicht. Das Dublett bei 154.0 ppm gehört zweifellos zu C-7*; seine starke Entschirmung läßt sich durch die bereits bei 29 erörterte Mesomerie erklären



und zeigt damit, daß die positive Ladung auch hier über die Doppelbindung des Dimethylaminostyryl-Rest delokalisiert ist. Eine positive Teilladung tragen also C-2*,6*, C-2',6', C-4', C-7*, C-1 und C-3. Die C-Atome 2 und 7 erfahren nur einen induktiven Einfluß dieser Ladung und sind (im Vergleich zum Ausgangsalkohol nur wenig tieffeldverschoben) unter dem intensiven Signal bei 134.9 ppm zu suchen.

Die Zuordnung der Signale im Aliphatenteil erweist sich als relativ schwierig. Sicher zu erkennen ist das Quartett der N-Methylgruppen bei 49.3 ppm (p-DMAB/D_2SO_4 : 49.1 ppm).

Die drei Signale bei höchstem Feld lassen sich eindeutig als Methylgruppen identifizieren; durch Vergleich mit dem phenyl-substituierten Derivat ist die aromatische Methylgruppe zuverlässig dem Wert bei 24.6 ppm zuzuordnen. Damit gehören die Resonanzen bei 23.4 und 22.8 ppm zu C-9 und C-10. Obwohl die vier restlichen Signale alle schon im breitbandentkoppelten Spektrum sehr breit und mit geringer Intensität erscheinen, sind die Signale bei 47.3 und 35.8 ppm im gekoppelten Spektrum eindeutig als Dubletts auszumachen und damit zu C-4 und C-8 zuzuordnen. Wie in 29 sind die Resonanzen bei 27.0 und 25.4 ppm im gekoppelten Spektrum - teils wegen ihrer geringen Intensität, teils durch Überlappung mit Teilen der Methylquartetts - kaum noch zu erkennen, müssen jedoch ebenso wie dort zu C-6 und C-5 gehören.

Tab.17: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen des 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-p-tolyl-2-cyclohexenyl-Kations (30) in konz. H_2SO_4/konz. D_2SO_4-Gemisch (0,8+0,5 ml), bezogen auf Dichlormethan als internen Standard

ppm	Multiplizität	J_{C-H} [Hz]	Zuordnung
203.8	S_m		C-3$^+$
188.0	S_m		C-1$^+$
158.9	S		C-4'
	m	≈6 mit 7'-H_3 und 3',5'-H_2	
154.0	D_m	160 mit 7*-H	C-7*
146.2	S_m		C-4*
138.9	S		C-1'$^\Delta$
	?	verdeckt	
137.7	S		C-1*$^\Delta$
	?	verdeckt	
134.9	D_m	160	C-2',6'
(sechsfache Intensität)			C-2*,6*
			C-2
			C-7
133.5	D_m	160 mit 3'-H bzw. 5'-H	C-3',5'
(doppelte Intensität)			
123.0	D	162 mit 3*-H bzw. 5*-H	C-3*,5*
	d,m	3 mit 5*-H bzw. 3*-H	
(doppelte Intensität)			
49.3	Q_m	144 mit 8*-H_3 bzw. 9*-H_3	C-8*,9*
(doppelte Intensität)			
47.3	D	Überlagerungen	C-4
35.8	D		C-8
27.0	T		C-6
25.4	T		C-5
24.6	Q		C-7'
23.4	Q		C-9$^\blacktriangledown$
22.8	Q		C-10$^\blacktriangledown$

$^+, \Delta, \blacktriangledown$) Zuordnung paarweise austauschbar

8.3.2 Elektronenspektren in konz. Schwefelsäure und 70proz. Perchlorsäure

Die Elektronenspektren der roten Lösungen von $\underline{\underline{27}}$ und $\underline{\underline{28}}$ in konz. Schwefelsäure (Abb.48a,b) bzw. in 70proz. Perchlorsäure (Abb.48c,d) zeigen Absorptionsmaxima bei 527 nm und 539 nm mit extrem hohen ε-Werten. Diese liegen in Perchlorsäure noch deutlich höher als in Schwefelsäure (98 700 gegenüber 80 700 bei $\underline{\underline{27}}$, 111 400 gegenüber 99 600 bei $\underline{\underline{28}}$). Auch die Form der Spektren wird vom Lösungsmittel beeinflußt, da die Schulter an der kürzerwelligen Flanke mehr oder weniger ausgeprägt erscheint. Möglicherweise ist dies Folge von Zersetzungsprozessen, die während des Lösevorganges in Schwefelsäure - bedingt durch die größere freiwerdende Reaktionswärme - schneller ablaufen als in Perchlorsäure.

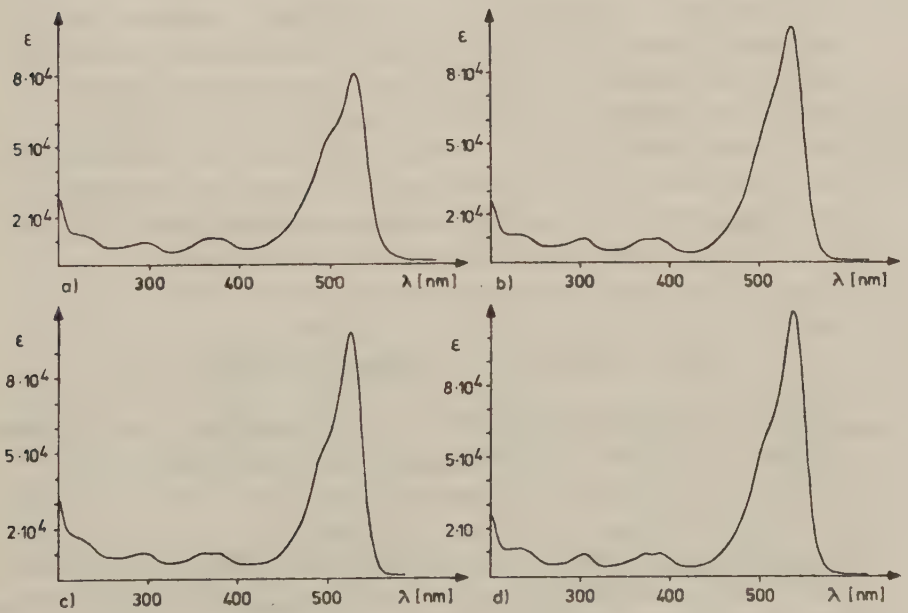


Abb.48a-d: Elektronenspektren von $\underline{\underline{27}}$ und $\underline{\underline{28}}$ in konz. Säuren
a) $\underline{\underline{27}}$ in konz. Schwefelsäure
b) $\underline{\underline{28}}$ in konz. Schwefelsäure
c) $\underline{\underline{27}}$ in 70proz. Perchlorsäure
d) $\underline{\underline{28}}$ in 70proz. Perchlorsäure

Sowohl die Form der Spektren als auch die Werte der Absorptionsmaxima stimmen gut mit den Elektronenspektren der Farbprodukte überein, die in konz. Schwefelsäure aus p-DMAB und den Cyclohexenylcarbenium-Ionen 22 und 25 entstehen.
Bemerkenswert ist vor allem die gleiche bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums im Tolylderivat gegenüber dem Phenylderivat durch den Einfluß der aromatischen Methylgruppe um 12 nm. Dieser starke Einfluß der Methylgruppe ist nur dann zu verstehen, wenn der Tolylrest als Substituent des Dienylsystems das Chromophor verlängert.
Beim zweiten denkbaren Reaktionsprodukt, einem Triarylmethanfarbstoff, in dem zwei der Phenylreste eine ortho-Methylgruppe tragen würden, wäre durch sterische Hinderung eher eine Beeinträchtigung der Mesomerie und daraus folgend eine hypsochrome Verschiebung gegenüber dem Phenylderivat zu erwarten.
Da durch die ^{13}C-NMR-Spektren zweifelsfrei bewiesen ist, daß die Alkohole 27 und 28 in konz. Schwefelsäure vollständig in die Carbenium-Ionen 29 und 30 umgewandelt werden, müssen die Absorptionen bei 527 bzw. 539 nm von diesen Carbenium-Ionen herrühren. Folglich stellt ihre Grundstruktur eines zweifach phenylsubstituierten Dienylcarbenium-Ions das farbgebende Prinzip der GHAMRAWY-Reaktion dar.

8.3.3 Elektronenspektren in verdünnter Perchlorsäure

Ebenso wie die Reaktionsprodukte von 20, 21 und 1 mit p-DMAB zeigen die Alkohole 27 und 28 einen Farbumschlag von Rot nach Blau, wenn ihre Lösungen in konz. Säure mit viel Wasser verdünnt werden.
Die Elektronenspektren dieser Farbstoffe (Abb.49a-d) lassen sich nur in verdünnter Perchlorsäure aufnehmen; wird Schwefelsäure verwendet, so verschwindet die blaue Färbung bereits

wenige Sekunden nach dem Verdünnen in Wasser oder Methanol. Zeichnet man den Extinktionsabfall im Maximum bei 580 nm bzw. 600 nm als Funktion der Zeit auf, und extrapoliert auf t = 0, so ergibt sich in Methanol für 27 ein ε-Wert von etwa 36 000, für 28 ein ε-Wert von etwa 43 000.

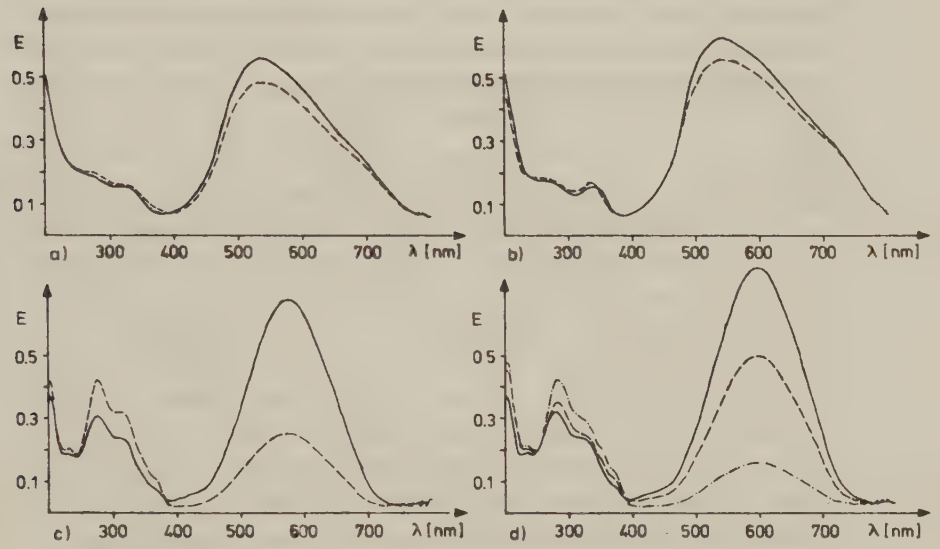


Abb.49a-d: Elektronenspektren von 27 und 28 in wäßriger und methanolischer 1,4proz. Perchlorsäure (c= $2 \cdot 10^{-5}$M)

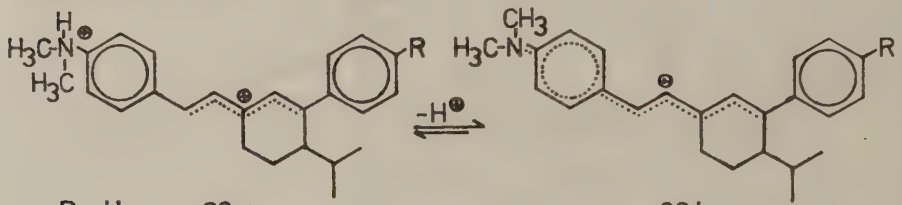
a) 27 in wäßriger Perchlorsäure ——— 15 sec nach dem Verdünnen, ----- 10 min nach dem Verdünnen gemessen

b) 28 in wäßriger Perchlorsäure ——— 15 sec nach dem Verdünnen, ----- 10 min nach dem Verdünnen gemessen

c) 27 in methanolischer Perchlorsäure ——— 15 sec, ----- 10 min nach dem Verdünnen gemessen

d) 28 in methanolischer Perchlorsäure ——— 15 sec, ----- 3 min, -·-·-·- 12 min nach dem Verdünnen gemessen.

Als Ursache für den Farbwechsel von Rot nach Blau beim Wechsel von konzentrierter zu verdünnter Säure ist anzunehmen, daß das zuvor an der Dimethylaminogruppe protonierte Dikation (29a bzw. 30a) dieses Proton abspaltet und das nun freie Elektronenpaar des Stickstoffs an der mesomeren Delokalisierung der positiven Ladung des Dienylsystems teilnehmen kann. Das auf diese Weise entstandene Ion läßt sich als "halbes Cyanin" oder als "vinyloges-phenyloges Carbenium-Iminium-Ion" beschreiben.



R= H 29a 29b

R= CH_3 30a 30b

Für diese Theorie sprechen folgende Argumente:
a) die GHAMRAWY-Farbreaktion läßt sich auch mit unsubstituiertem Benzaldehyd durchführen. Die dabei entstehenden rotvioletten Farblösungen zeigen keinen Farbumschlag nach Blau. Beim Verdünnen in Wasser verschwindet die rote Färbung, und es scheiden sich blaßbraune Flocken ab.
b) Aus den Vorläuferalkoholen 27 und 28 entsteht schon bei der Adsorption an aktives Kieselgel (DC, SC) eine deutliche Blaufärbung; diese schlägt beim Besprühen mit konz. Säuren nach Rotviolett, beim Besprühen mit Laugen nach Gelb um.
c) Der blaue Farbstoff ist gegen Nucleophile wie Wasser oder Alkohole nur kurze Zeit beständig und verschwindet sofort bei Berührung mit Basen (Alkalihydroxid, Piperidin, ...), während er in Perchlorsäure-haltigem Dichlormethan über Tage stabil ist. Dies deutet darauf hin, daß das Molekül noch einen Carbenium-Kohlenstoff enthält.

9. Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es zunächst, die Bedingungen der GHAMRAWY-Reaktion zu überprüfen und gegebenenfalls so zu verbessern, daß die Reaktion eine möglichst große Empfindlichkeit mit einer möglichst großen Selektivität vereint.

Da festgestellt werden konnte, daß je nach den Reaktionsbedingungen Farblösungen mit unterschiedlichen Absorptionsmaxima entstehen, wurde es notwendig, eines davon zur Optimierung auszuwählen. Hierfür erschien die Absorption mit Maximum bei 540 nm aus mehreren Gründen am besten geeignet:

a) Sie erscheint als erste der möglichen Absorptionen.
b) Sie zeigt mit ihrer rotvioletten Farbe einen deutlichen Unterschied zu den für andere Substanzen beschriebenen Braunrot-Färbungen, deren Absorptionsmaxima unterhalb 500 nm auftreten.
c) Sie besitzt eine vergleichsweise kleine Halbwertsbreite, die wahrscheinlich macht, daß sie nur von einer oder wenigen Substanzen herrührt.

Für die Optimierung des Schnelltestes genügt es nun nicht, die Bedingungen so zu variieren, daß ein möglichst hoher $E^{1\%}_{1cm}$-Wert bei 540 nm erhalten wird. Da die Rotfärbung in konz. Säure nur den ersten Teil der Farbreaktion darstellt, muß auch der zweite Teil, die Ausbildung einer blauen Färbung beim Verdünnen in Wasser, berücksichtigt werden. Diese ist nur dann gut zu erkennen, wenn die rote Stammlösung so konzentriert ist, daß ihr ein Extinktionswert von mehr als 400 bei 540 nm entspricht, weil der blaue Farbstoff - in Wasser verdünnt - nur etwa ein Viertel der Extinktion gegenüber dem roten Farbstoff - in konz. Säure verdünnt- besitzt, und weil es günstig ist, die Säurekonzentration beim Verdünnen in Wasser auf weniger als 1% zu senken, damit sich die Lösung nicht zu stark erwärmt. Andernfalls wird die

Zersetzungsgeschwindigkeit des blauen Farbstoffes so gesteigert, daß er nur in einer sehr kurzen Zeitspanne zu beobachten ist.
Führt man die Primärreaktion jedoch unter den geforderten Bedingungen durch, so entsteht keine optimale Ausbeute an rotem Farbstoff, da sich gezeigt hat, daß bei höherer Konzentration verstärkt Nebenreaktionen ablaufen. Eine Vorschrift für die GHAMRAWY-Reaktion als Schnelltest wird also immer einen Kompromiß aus den genannten Forderungen für die beste Ausbildung der roten und der blauen Färbung darstellen.

Wenn die angegebenen Bedingungen eingehalten werden, bringt die GHAMRAWY-Reaktion eine selektive Rotviolett-Färbung hervor ("pink"), die von den spezifischen Cannabis-Inhaltsstoffen CBD und THC herrührt. Diese Färbung darf nicht mit den braunroten Färbungen verwechselt werden, die aus CBN oder verschiedenen Terpenen entstehen.
Die genauere Kenntnis des Reaktionsprinzips läßt die Bedeutung dieses Unterschieds verstehen.
Die Reaktion mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure läuft in zwei Stufen ab. Im ersten Schritt entsteht aus CBD (THC) in konz. Schwefelsäure ein mesomeriestabilisiertes phenylsubstituiertes Cyclohexenylcarbenium-Ion, das bei 418 nm ein Absorptionsmaximum besitzt und daher gelb gefärbte Lösungen bildet.
In konz. Schwefelsäure ist es bei Raumtemperatur stabil und steht nur zu einem sehr geringen Anteil mit seinen konjugierten Dienen im Gleichgewicht. Bei Erhöhung der Temperatur verlagert sich dieses Gleichgewicht, und die Konzentration der Diene steigt an.
Im zweiten Schritt der Farbreaktion greift der durch die Säure aktivierte Aldehyd das Dien-System elektrophil an. Aus dem so gebildeten neuen Carbenium-Ion wird Wasser abgespalten, und es entsteht ein zweifach phenylsubstituiertes Dienylcarbenium-Ion. Dieses zeigt durch die Verlängerung des Chromophors eine bathochrome Verschiebung seines

Absorptionsmaximums nach 540 nm und bildet daher rotviolette Lösungen.
Voraussetzung für den Ablauf der eigentlichen GHAMRAWY-Farbreaktion ist folglich, daß das nachzuweisende Molekül die Vorläuferstruktur für ein stabiles phenylsubstituiertes Cyclohexenylcarbenium-Ion aufweist. Da diese weder in CBN vorliegt (hier fehlt die potentielle Allylstruktur, da Ring A bereits aromatisiert ist), noch in Terpenen wie Menthol, Terpineol oder Limonen (diesen fehlt der stabilisierende und die Lichtabsorption bathochrom verschiebende Phenylsubstituent), müssen deren Reaktionsprodukte mit p-DMAB eine andere Struktur und abweichende Absorptionsmaxima besitzen.
Besonders wichtig erscheint in diesem Zusammenhang, daß die GHAMRAWY-Reaktion also nicht, wie andere gebräuchliche Farbreaktionen für Cannabis-Zubereitungen (BEAMS Test, Reaktion mit Echtblausalz B), an das Vorhandensein einer oder zweier phenolischer Hydroxylgruppen gebunden ist, sondern nur an die Kombination eines Cyclohexenringes mit einem Phenylrest.

Nach den dargelegten Ergebnissen sollte man erwarten, daß die GHAMRAWY-Reaktion als selektiver, empfindlicher Schnelltest einen festen Platz in der Cannabis-Analytik einnimmt. Wie bereits in der Einleitung dargelegt, ist jedoch das Gegenteil der Fall. Die Reaktion gilt der Mehrzahl der Autoren[9,10,14,15] als unspezifisch und unbrauchbar oder wird - vermutlich gerade deshalb - gar nicht erst erwähnt. Auch diese Einschätzung der Reaktion läßt sich nach den vorliegenden Ergebnissen besser verstehen.
Zum einen wird offensichtlich meistens die Unterscheidung zwischen Braunrot und Violettrot nicht gemacht, eine Tatsache, die man vielleicht damit erklären kann, daß Farbtonunterschiede in einer konzentrierten Farblösung nur sehr schlecht zu erkennen sind.
Zum anderen haben die Untersuchungen gezeigt, daß neben den violettroten Farbstoffen aus den Haschisch-Inhaltsstoffen je

nach den Reaktionsbedingungen auch braunrote Färbungen mit Absorptionsmaximum bei 480 nm entstehen können. Diese sind vermutlich Folgeprodukte der ersteren und entstehen dann, wenn

a) ein zu großer Überschuß an Reagens (mit der ursprünglichen GHAMRAWY-Konzentration von 20% relativ leicht zu erreichen)
b) eine zu hohe Konzentration sowohl an Reagens als auch an Substrat
c) eine zu lange Reaktionszeit

gewählt werden.

Diese Färbungen können tatsächlich leicht mit den oben angeführten Farben verwechselt werden.

Selbst wenn eine Lösung korrekt nach der GHAMRAWY-Vorschrift hergestellt worden ist, kann es sein, daß sie einen braunroten Farbton zeigt, dann nämlich, wenn sehr viel Substrat vorhanden ist, und sich die gelbe Vorstufe noch nicht vollständig zum purpurroten Endprodukt umgesetzt hat.

Das Gemisch beider Absorptionen ist für das menschliche Auge nur als Braunrot wahrzunehmen.

Die Tatsache allein, daß auch andere Substanzen (höhere Alkohole, ungesättigte Kohlenwasserstoffe, Terpene, Steroide, Phenole und aromatische Amine) Färbungen mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure ergeben können[20], genügt nicht als Argument gegen die GHAMRAWY-Reaktion, da die wenigsten Farbreaktionen so selektiv sind, daß sie durch keine andere Substanz gestört werden können, und da derselbe Einwand genauso für andere Aldehyd-Säure-Farbreaktionen gelten müßte.

Für eine quantitative Bestimmung scheint sich die Reaktion nicht zu eignen. Vergleicht man die ε-Werte der synthetisierten Farbprodukte mit den ε-Werten, die sich aus den Reaktionsansätzen mit p-DMAB berechnen lassen, so stellt man fest, daß sie etwa doppelt so hoch sind. Dies bedeutet, daß nur ein Drittel (bei den Modellsubstanzen) bis günstigstenfalls die Hälfte (bei CBD unter optimalen Bedingungen) der

nachzuweisenden Substanz zum gewünschten Farbprodukt reagiert. Der Rest muß durch Nebenreaktionen verbraucht werden, deren Produkte oberhalb 350 nm keine Lichtabsorption zeigen. Wieviel tatsächlich zum gesuchten Farbprodukt umgesetzt wird, und welcher Anteil verloren geht, streut von Ansatz zu Ansatz erheblich. Faktoren, die die Ausbeute an Farbstoff beeinflussen, sind

- die absoluten und die relativen Konzentrationen der Reaktionspartner (es ist z.B. nicht einmal gleichgültig, ob man den Aldehyd in 5fachem oder 20fachem Überschuß einsetzt)
- der Wassergehalt der verwendeten Schwefelsäure
- die Reaktionstemperatur
- die Reaktionszeit
- die Menge des Reaktionsansatzes
- die Methode, mit deren Hilfe die untersuchten Substanzen mit der Schwefelsäure in Berührung gebracht werden.

Da in jedem Fall, auch wenn es gelingen sollte, alle diese Variablen konstant zu halten, die Erstellung einer Eichgeraden notwendig wäre, für die jedoch im allgemeinen keine reinen Substanzen zur Verfügung stehen, und da stets mit Störungen durch irgendwelche Verunreinigungen, die mit konz. Schwefelsäure Färbungen ergeben, zu rechnen ist, wird die Brauchbarkeit der GHAMRAWY-Reaktion auf den qualitativen Nachweis beschränkt bleiben.

Abschließend stellt sich die Frage, ob sich die GHAMRAWY-Farbreaktion in eines der bekannten Reaktionsschemata vom Typ "Aldehyd-wasserentziehende Säure" einordnen läßt. Soweit diese Farbreaktionen aufgeklärt sind, gehören sie in eine der folgenden zwei Gruppen:

a) Besitzt das nachzuweisende Molekül einen aktivierten Aromaten (Phenol, Indol...) so kann ein- oder zweifache aromatische Substitution erfolgen unter Bildung von Di- oder Triphenylmethanfarbstoffen (Beispiel VAN URK-Reaktion[22]) oder - mit anschließender Kondensation - unter

Bildung von Xanthen-Derivaten (Beispiel Chromotropsäure-Reaktion[42]).

b) In zahlreichen Fällen entstehen durch teilweise sehr komplexe Abspaltungs-, Umlagerungs-, Polymerisierungs- und Disproportionierungsschritte als erste faßbare Produkte Cyclopentenylcarbenium-Ionen[24,26,27], die an ihrer unsubstituierten -Position als CH-acide Komponente mit dem Aldehyd zu Farbstoffen vom Fulven-Typ kondensieren.

Es leuchtet ein, daß die GHAMRAWY-Reaktion größere Ähnlichkeiten mit dem zweiten Reaktionsprinzip besitzt. Das faßbare Zwischenprodukt ist hier jedoch kein Cyclopentenyl-, sondern ein Cyclohexenylcarbenium-Ion. Dies ist auf den Einfluß des aromatischen Substituenten zurückzuführen, der durch mesomere Delokalisierung der positiven Ladung das Cyclohexenylcarbenium-Ion so weit stabilisiert, daß es sich nicht in ein (für sich betrachtet energieärmeres !) Cyclopentenylcarbenium-Ion umlagert. Die Art der Reaktion des aromatischen Aldehyds mit dem Carbenium-Ion ist dagegen in allen Fällen dieselbe. Sie wird in den angesprochenen Arbeiten von AUTERHOFF und anderen[24-27] als Kondensation eines Aldehyds mit dem Carbenium-Ion als CH-acider Komponente beschrieben. Eine solche Terminologie erscheint nicht sehr günstig, da sie Assoziationen an "echte" CH-acide Verbindungen wie Aldehyde oder Ketone hervorruft und damit gleichzeitig suggeriert, daß an der Reaktion ein Carbanion beteiligt ist. Dies ist selbstverständlich nicht der Fall. Vielmehr besagt der Terminus CH-Acidität in diesem Zusammenhang nichts anderes, als daß in jedem Carbenium-Ion die Wasserstoffatome in α-Stellung zur positiven Ladung als Protonen abgespalten werden können, wodurch zwangsläufig das jeweilige konjugierte Olefin entsteht, welches das Angriffsziel für den elektrophilen Aldehyd darstellt.

10. Zusammenfassung

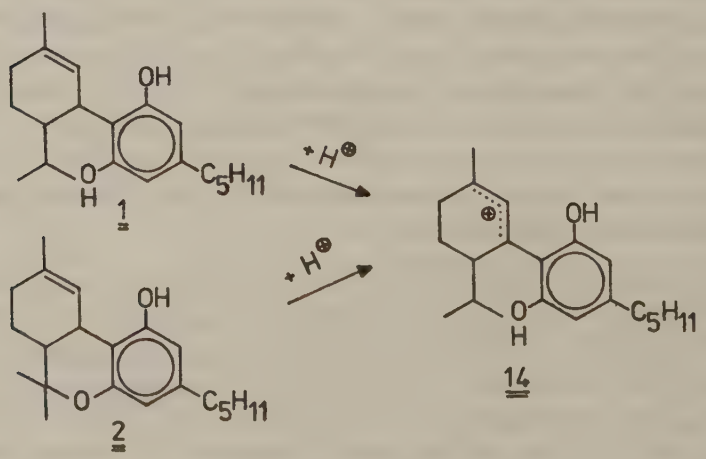
Ein bisher ungeklärter Farb-Schnelltest zum Nachweis von Cannabis-Zubereitungen, die nach ihrem Entdecker benannte GHAMRAWY-Reaktion, wurde näher untersucht. Die Reaktion gilt als positiv, wenn beim Erhitzen von Haschisch- oder Marihuana-Petroletherextrakt mit 20proz. p-DMAB-Schwefelsäure eine purpurrote Färbung entsteht, die beim Verdünnen mit Wasser nach Indigoblau umschlägt.

Nachdem in der vorliegenden Untersuchung zunächst festgestellt worden war, daß je nach den Reaktionsbedingungen (Variation von Reagenskonzentration, Mengenverhältnis der Reaktanden und Reaktionszeit bei konstanter Reaktionstemperatur von 100°C) Lösungen mit unterschiedlichen Färbungen von Orange bis Purpur und Absorptionsmaxima zwischen 480 und 560 nm entstehen, wurde die Reaktion so optimiert, daß man Farblösungen von klarem, leicht wiederzuerkennendem Purpurrot ("pink") erhielt. Diese Färbung rührt von einer sehr scharfen Absorptionsbande mit Maximum bei 540 nm und Schulter bei etwa 500 nm her und schlägt beim Verdünnen mit Wasser nach tief Indigoblau um. Am besten führt man die Reaktion in der Weise durch, daß man einen Petrolether-Extrakt aus 5 mg Haschisch oder mindestens 50 mg Marihuana mit 0,5 ml einer 1proz. p-DMAB-Lösung (≙ 5 mg) in konz. Schwefelsäure 3 min im siedenden Wasserbad erhitzt und nach dem Abkühlen in 10 bis 20 ml kaltem Wasser verdünnt. Da sich die Lösung dabei stark erwärmt, ist die Blaufärbung nur sehr kurze Zeit beständig.

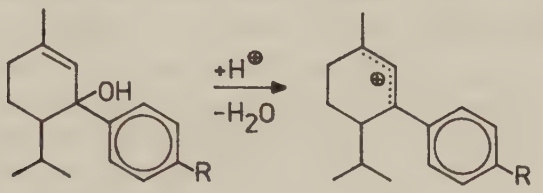
Weiter wurde festgestellt, daß die Reaktion tatsächlich von den spezifischen Cannabis-Inhaltsstoffen CBD und Δ^1- bzw. $\Delta^{1(6)}$-THC sowie den entsprechenden Carbonsäuren hervorgerufen wird, nicht aber von CBN. Sie erfaßt so die Inhaltsstoffe, die für Cannabis kennzeichnend sind, darunter auch genau die halluzinogen wirksame Komponente. Gleichzeitig

erklärt dieser Befund die Tatsache, daß nicht alle Haschisch-Sorten eine positive GHAMRAWY-Reaktion ergeben, nämlich solche nicht, die infolge Überreife oder Überlagerung nur noch CBN enthalten.
Auch die Vermutung, die Farbreaktion sei ausschließlich oder zum Teil auf bestimmte im ätherischen Öl enthaltene Terpene zurückzuführen, konnte widerlegt werden. Zwar ergeben auch Terpene wie Menthol, Limonen, Cymol oder Terpineol eine Farbreaktion mit p-DMAB-Schwefelsäure, jedoch liegen die Absorptionsmaxima der entsprechenden Farblösungen bei kürzeren Wellenlängen (zwischen 460 und 500 nm), und die Farbe der Lösungen ist eher braunrot als purpurrot. Beim Verdünnen in Wasser zeigen die Farbstoffe aus Terpenen ebenfalls kürzerwellige Absorptionen, d.h. eine violette statt blaue Farbe.

Eine nähere Untersuchung der GHAMRAWY-Reaktion an synthetisch gewonnenem CBD ergab, daß die Reaktion in zwei Stufen abläuft. Zunächst entsteht aus CBD (1) oder THC (2) in konz. Schwefelsäure ein Cyclohexenylcarbenium-Ion (14) mit Absorptionsmaximum bei 418 nm.



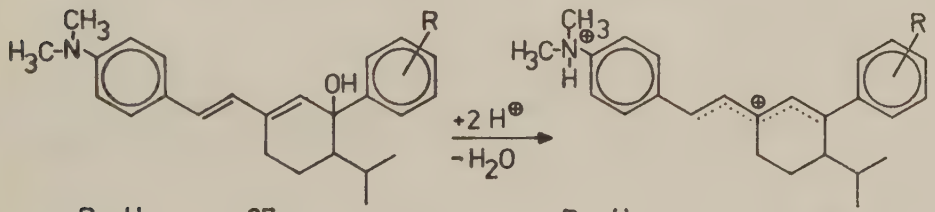
Zum Vergleich der Eigenschaften dieses Carbenium-Ions wurden die Alkohole 20 und 21 synthetisiert, die in konz. Schwefelsäure zu den analogen Carbenium-Ionen 22 und 25 dehydratisiert werden, ein Verhalten, das sich mit Hilfe der ^{13}C-NMR-Spektren der Alkohole in konz. Schwefelsäure beweisen läßt.



R= CH_3 20 22

R= H 21 25

Durch elektrophilen Angriff des Aldehyds am Doppelbindungssystem der im Gleichgewicht mit den Carbenium-Ionen vorliegenden Diene entstehen Polymethincarbenium-Ionen, die gegenüber den Ausgangs-Carbenium-Ionen um eine Doppelbindung verlängert und an beiden Enden des Enylsystems aromatisch substituiert sind. Daher sind sie stabiler und zeigen bathochrome Verschiebung ihrer Lichtabsorption.



R= H 27

R= CH_3 28
an C-4

R= H 29

R= CH_3 an C-4 30

R= OH an C-2 und C-6
C_5H_{11} an C-4

Die Carbenium-Ionen 29 und 30, deren Entstehen aus den präparativ dargestellten Vorläuferalkoholen 27 und 28 mittels ^{13}C-Kernresonanzspektroskopie bewiesen wurde, stimmen in der Lage ihrer Absorptionsmaxima sowie in der Gestalt ihrer Elektronenspektren sowohl mit den Reaktionsprodukten überein, die aus den Carbenium-Ionen 22 und 25 mit p-DMAB in konz. Schwefelsäure erhalten werden, als auch mit dem Farbprodukt, welches aus CBD entsteht.

11. Experimenteller Teil

Allgemeines:

Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Heiztisch-mikroskop ermittelt und sind unkorrigiert angegeben.

Elektronenspektren

Die Messungen wurden mit den Beckman-Spektralphotometern DB-GT und Modell 24 in Quarzküvetten von 1 cm Schichtdicke durchgeführt. Die Lösungsmittel sind bei den jeweiligen Versuchen angegeben.

Infrarotspektren

Die Aufnahmen erfolgten in den Beckman-Infrarot-Spektralphotometern Modell IR 4250 und Acculab 4. Kristalline Proben wurden mit Hilfe von KBr-Preßlingen, ölige Proben als Film (je nach vorhandener Substanzmenge in einer längenverstellbaren Küvette oder auf einen KBr-Preßling aufgebracht) aufgenommen.

Kernresonanzspektren

Alle ^{13}C-NMR-Spektren wurden mit einem Bruker WP-80-Spektrometer aufgenommen, mit Ausnahme des 22,628 MHz-Spektrums in Abb.23. Dieses wurde auf einem Bruker HFX Spectrospin Gerät gemessen.

Massenspektren

Zur Aufnahme der Massenspektren diente ein Varian Gerät Typ CH 7 MAT.

DC

Für die DC wurden ausschließlich Kieselgel 60 F_{254} Fertigplatten mit 0,25 mm Schichtdicke Merck verwendet. Die Probenlösungen wurden mit Microcaps-Pipetten aufgetragen.

Als Entwicklungsgefäße dienten für die Platten mit 15 cm Laufstrecke 20x20x10 cm Trogkammern, für 10 cm Laufstrecke CAMAG-Doppeltrogkammern. Die neben der Betrachtung im UV-Licht zur Detektion verwendeten Sprühreagenzien sind bei den Abbildungen der Chromatogramme angegeben, ebenso Fließmittel (FM) und Trennstrecke.

Zu 2.1 Optimierung der Reaktionsbedingungen

Für die Untersuchungen stand ein Haschisch der Sorte "Roter Libanese" zur Verfügung.

Herstellung des Haschisch-Petroletherextraktes

1,0 g zerkleinertes Haschisch wurde mit 30 ml Petrolether 50/70 übergossen, 5 min im Ultraschallbad gehalten, die überstehende Lösung in einen Meßkolben filtriert, der Rückstand noch vier mal mit je 15 ml Petrolether 50/70 in derselben Weise extrahiert und die so erhaltene Lösung unter Nachwaschen des Filters auf 100 ml aufgefüllt. Die Lösung wurde im Kühlschrank aufbewahrt.

Herstellung der p-DMAB-Schwefelsäure Reagenzlösungen

(Konzentrationsangabe in % = g/100 ml)
Die benötigte Menge p-DMAB wurde in Anteilen in einen Meßkolben, der zu 2/3 mit konz. Schwefelsäure gefüllt war, eingetragen und zur Beschleunigung des Lösevorganges ins Ultraschallbad gebracht. Durch wiederholtes Kühlen in Eiswasser wurde verhindert, daß sich die Lösung zu stark erwärmte. Anschließend wurde mit konz. Schwefelsäure aufgefüllt.
Die Verwendung von konz. Schwefelsäure als "Lösungsmittel" bewirkt gravierende Änderungen im UV- und ^{13}C-NMR-spektroskopischen Verhalten von p-DMAB.
Die Absorptionsmaxima liegen in Methanol bei 240 nm ($\log \varepsilon$ = 3.7) und 340 nm (4.5), in konz. Schwefelsäure bei 254 nm und 272 nm (4.176). Auch die ^{13}C-NMR-Spektren zeigen den Einfluß der Schwefelsäure durch deutliche Tieffeldverschiebungen (Abb.50, Tab.18).

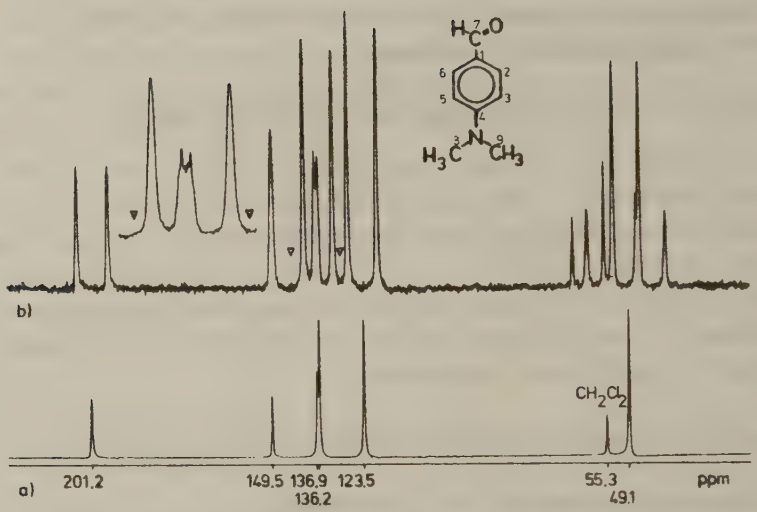


Abb.50a,b: ^{13}C-$\{^1H\}$-NMR-Spektren von p-DMAB in konz. D_2SO_4
a) breitbandentkoppeltes Spektrum
b) alternierend gepulstes Doppelresonanzspektrum

Die Zuordnung des p-Dimethylaminobenzaldehyd in konzentrierter Deuteroschwefelsäure erfolgte durch Vergleich mit der Messung in $CDCl_3$ und Berücksichtigung des Einflusses der Protonierung der Dimethylamino- und der Carbonylfunktion.

Tab.18: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen von p-DMAB in $CDCl_3$ und in D_2SO_4 konz., bezogen auf CH_2Cl_2 als internen Standard

ppm in $CDCl_3$	ppm in D_2SO_4	Multiplizität	J_{C-H} [Hz]	Zuordnung
191.0	201.2	D	175 mit 7-H	C-7
155.6	149.5	S		C-4
126.3	136.9	S		C-1
		d	18 mit 7-H	
		t	6 mit 3,5-H_2	
133.0	136.2	D	165 mit 2 bzw.6-H	C-2,6
(doppelte Intensität)				
112.5	123.5	D	165 mit 3 bzw.5-H	C,3,5
(doppelte Intensität)				
40.9	49.1	Q	125 mit 8-H_3 bzw. 9-H_3	C-8,9
(doppelte Intensität)				

Das Dublett bei 201.2 ppm paßt zu einem Carboxykohlenstoff, der durch Protonierung des Carbonylsauerstoffs eine Entschirmung um ca. 10 ppm erfährt. Die Singuletts bei 149.5 ppm und 136.9 ppm sind den aromatischen Kohlenstoffen 4 und 1 zuzuordnen, wobei C-4 durch Protonierung der tertiären Aminogruppierung hochfeldverschoben und C-1 durch verstärkten -I-Effekt der protonierten Carbonylgruppierung tieffeldverschoben in Resonanz tritt. In Analogie dazu erscheinen C-2 ,6 und C-3 ,5 als Dubletts doppelter Intensität tieffeldverschoben bei 123.5 und 136.2 ppm. Dabei fällt auf, daß der Wegfall des +M-Effekts der Dimethylaminogruppe eine größere Verschiebungsdifferenz bewirkt als die Verstärkung des -M-Effekts durch Protonierung der Carbonylfunktion.
Die Resonanz im Aliphatenbereich bei 49.1 ppm gehört zur Dimethylaminofunktion und zeigt ebenfalls starke Protonierungsverschiebung um ca. 8 ppm zu tieferem Feld.

Durchführung der GHAMRAWY-Farbreaktion (zu den Abbn. 1 bis 6)

Alle Farblösungen wurden nach der folgenden Vorschrift hergestellt. Die eingesetzten Mengen sind der Tab.19 zu entnehmen.
Eine entsprechende Menge des Haschischextraktes wurde im Schliffreagenzglas am Rotationsverdampfer zur Trockne gebracht, mit p-DMAB-Reagens versetzt, kurz ins Ultraschallbad gehalten, geschüttelt und in ein siedendes Wasserbad gehängt. Zum Abbruch der Reaktion bzw. Verdünnen auf Meßkonzentration wurde

a) bei konstanten Ansatzverhältnissen, aber Variation der Reaktionszeit (Abbn.1,2,4,6) jeweils eine Teilmenge mit einer Pipette entnommen und in kalter konz. Schwefelsäure verdünnt;
b) bei konstanter Reaktionszeit (Abbn.3,5) der gesamte Ansatz in Eiswasser gekühlt und mit kalter Schwefelsäure aufgefüllt.

Tab.19: Zusammenstellung der Ausgangssubstanzen, Verdünnungsvorschriften und Meßkonzentrationen zu den Abbildungen 1 bis 6

Abb.	Haschisch-Petrolether-Extrakt [ml] » Haschisch [mg]	p-DMAB-Reagens [ml] » p-DMAB [mg]	Ansatzverhältnis	Verdünnungsschritte	Meßkonz. [mg/ml] Haschisch	Meßkonz. [mg/ml] p-DMAB
1	20 200	1 (20%) 200	1 : 1	0,1 : 5 0,1 : 4	0,1	0,1
2	2 20	1 (20%) 200	1 :10	0,05 : 10	0,1	1,0
3-1	10 100	0,1 (10%) 10	10 : 1	0,1 : 5 0,05 : 10	0,1	0,01
3-2	1 10	0,1 (10%) 10	1 : 1	0,1 : 5 0,5 : 10	0,1	0,1
3-3	0,1 1	0,1 (10%) 10	1 :10	0,1 : 10	0,1	1,0
4	2 20	1 (10%) 100	1 : 5	0,1 : 5	0,1	0,5
5-1	1 10	0,1 (1%) 1	10 : 1	0,1 : 5 0,2 : 4	0,1	0,01
5-2	1 10	1 (1%) 10	1 : 1	0,05 : 5	0,1	0,1
5-3	0,1 1	1 (1%) 10	1 :10	0,5 : 5	0,1	1,0
6	1 10	1 (1%) 10	1 : 1	0,05 : 5	0,1	0,1

Alle Lösungen wurden möglichst rasch vermessen. Da festgestellt wurde, daß sich einmal erreichte Extinktionen in der Meßverdünnung und bei Raumtemperatur nur im Verlaufe von mehreren Stunden um mehr als 0,01 Extinktionseinheiten änderten, wurde der Einfluß einer möglichen Fortsetzung der Reaktion unter diesen Bedingungen vernachlässigt.

Zu. 2.2 Eigenschaften des blauen Farbstoffs

Aus 10 mg Haschisch und 1 ml p-DMAB/Schwefelsäure 1% wurde wie zu 2.1 beschrieben durch zweiminütiges Erhitzen die Lösung der purpurroten Farbstoffe erhalten. Da sich der beim Verdünnen entstehende blaue Farbstoff zusehends zersetzte, wurden jeweils 0,05 ml dieser Lösung direkt in der Meßküvette 1:50 verdünnt (Meßkonzentration 0,2 mg Haschisch/ml) und möglichst rasch vermessen (Beginn der 1. Messung 30 sec, der 2. Messung 5 min nach Verdünnen; Wellenlängenvorschub 100 nm/min).

Tab.20: Absorptionsmaxima und $E^{1\%}_{1cm}$-Werte der beim Verdünnen entstehenden Farbstoffe

Lösungsmittel	λ_{max}		$E^{1\%}_{1cm}$ nach 30 sec	nach 5 min
konz. Schwefelsäure	542		93	93
Eisessig	535		48.5	43
Wasser	≈ 600	(breit)	17.5	15
Methanol	710		14	
	653		16	
	705			9.5
	650			11.5

Zu 3.1 Reaktion mit Vergleichssubstanzen (Tab.2)

Herstellung der Lösungen:
Von einer 0,1proz. Stammlösung der Substanzen in Methanol (Phenole) bzw. Petrolether (Terpene) wurde 1 ml (≙1 mg) im Schliffreagenzglas einrotiert, mit 1 ml (≙ 10 mg) einer 1proz. Lösung von p-DMAB in konz. Schwefelsäure versetzt, kurz geschüttelt, 3 min im siedenden Wasserbad erhitzt und dann in kaltem Wasser schnell abgekühlt ("Reaktionslösung"). Zur Messung der Lichtabsorption wurde mit konz. Schwefelsäure auf Konzentrationen verdünnt, die Extinktionen zwischen 0,2 und 1,0 besaßen ("Meßlösung").

Zu 4. Synthese von CBD

Nach der Synthesevorschrift von RAZDAN[13] wurden entgegen den dort gemachten Angaben stets Gemische erhalten, die neben Δ^1-THC entweder größere Mengen $\Delta^{1(6)}$-THC oder sowohl CBD als auch $\Delta^{1(6)}$-THC enthielten. Nach mehreren erfolglosen Variationsversuchen wurde die Reaktion jeweils so rechtzeitig abgebrochen (dc Kontrolle), daß das Syntheseprodukt nur CBD und Δ^1-THC enthielt, deren sc Trennung erfolgreich durchgeführt werden konnte.

Bedingungen der präparativen SC:
stationäre Phase: Kieselgel 60 für die SC Merck Korngröße 0,040 - 0,063 mm in konventionellen Glasrohren mit Hahn - hydrostatischer Druck
Fließmittel: Petrolether 50/70 + Ether 97 + 3
Beladung: Verhältnis Probe : stat.Phase wie 1 : 200
dc Kontrolle der Fraktionen; $k'_{CBD} \approx 6$, $k'_{\Delta^1\text{-THC}} \approx 10$

Ausbeuten (Beispiel). Aus einem Reaktionsansatz von je 8 mmol Olivetol und 8 mmol 2,8-p-Menthadien-1-ol wurden 2,63 g Syntheseprodukt erhalten (8 mmol CBD bzw. Δ^1-THC ≙ 2,515 g), von dem eine Teilmenge von 500 mg Syntheseprodukt nach sc-Trennung 87 mg (18% d.Th.) CBD und 24 mg Δ^1-THC (5% d.Th.) lieferte.

Braunfärbung der Säulen trotz Lichtschutz und geringe Ausbeuten deuten darauf hin, daß unter den o.g. Bedingungen ein nicht unerheblicher Anteil der Cannabinoide, besonders der THC-Isomeren, durch Polymerisation verlorengeht.

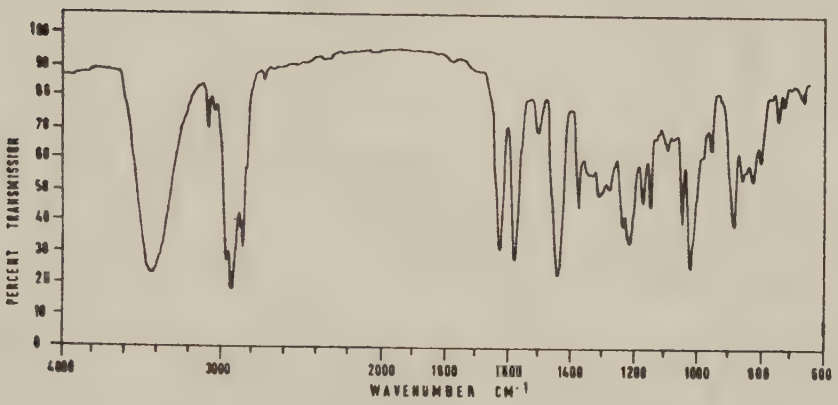


Abb.51: IR-Spektrum von CBD (1)

3600 - 3200 cm^{-1} : ν_{O-H} assoziiert

2980 - 2820 cm^{-1} : ν_{C-H} asym. und sym. der aliphat. C-H-Bindungen

1620, 1580, 1500 cm^{-1}: $\nu_{C=C}$ aromat.

1470 - 1420 cm^{-1} : δ_{C-H} aliphat.

Die Abwesenheit von starken Absorptionen zwischen 700 und 900 cm^{-1} zeigt, daß der vorhandene Aromat nur isolierte H-Atome besitzen kann.

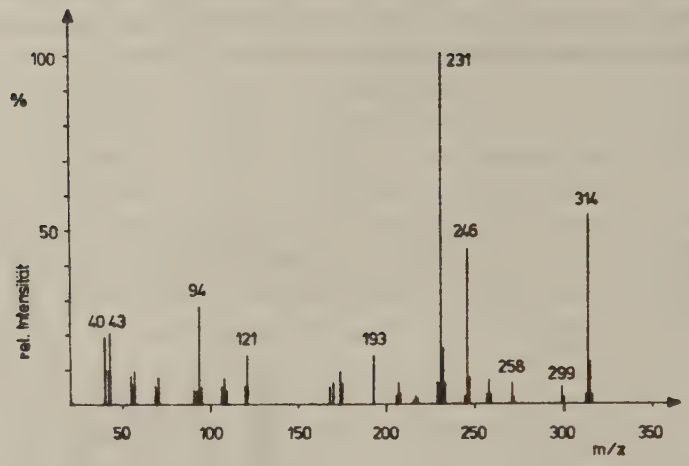
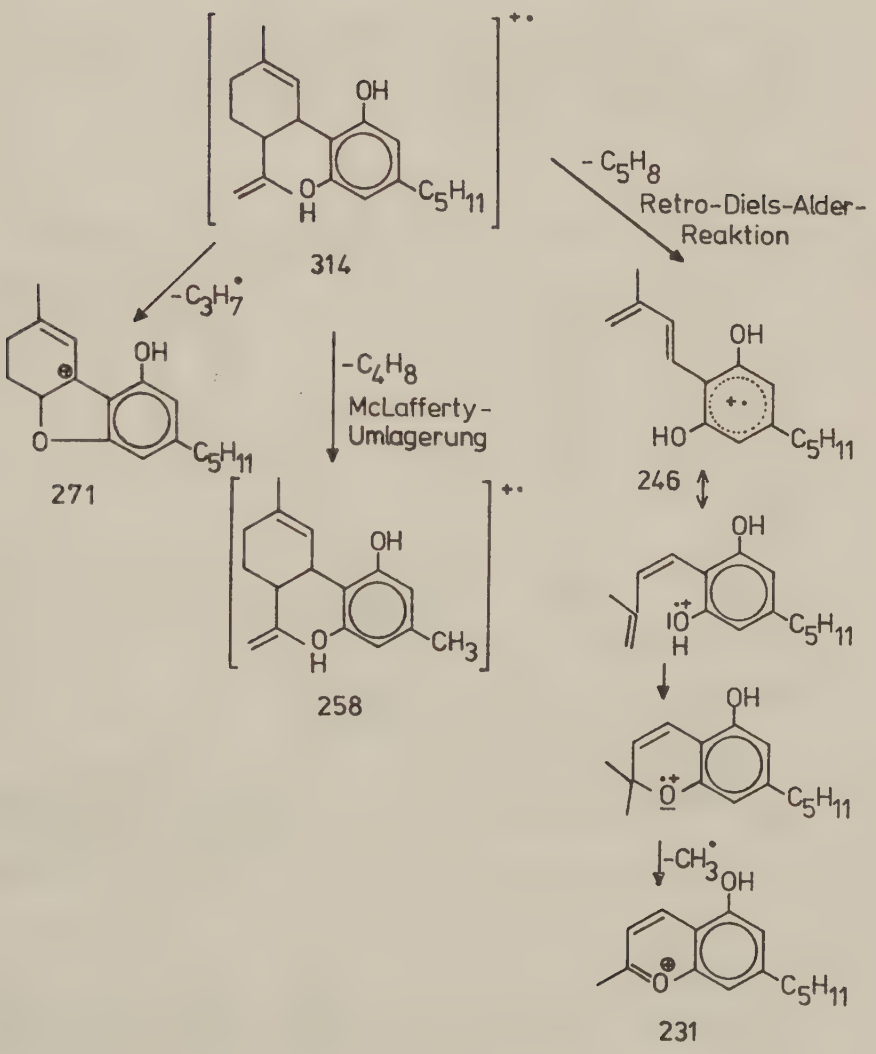


Abb.52: Massenspektrum von CBD

Tab.21: Zuordnung der Fragment-Ionen aus CBD

m/e	%	M - x	Zuordnung
316	2,5	M + 2	
315	12,5	M + 1	
314	54	$M^{+\cdot}$	Molekül-Ion
299	5	M - 15	- Methylradikal
271	6	M - 43	- Isopropylradikal
258	7	M - 56	- Buten aus n-Pentylrest am Aromaten
246	44	M - 68	- Pentadien
232	16		
231	100	M - 83	- Pentadien, - Methylradikal
base paek			
217			metastabiler Peak, der zur Zerfallsreaktion $246 \longrightarrow 231 + 15$ gehört ($m^* = \frac{m^2}{m_1} = \frac{231^2}{246} = 126{,}9$)

Zerfallsschema:



Zu 5. Synthese und Eigenschaften von 3-p-Tolyl-1-p-menthen-3-ol (20) und 3-Phenyl-1-p-menthen-3-ol (21)

Zur Charakterisierung des verwendeten Piperitons und als Zuordnungshilfe für die Syntheseprodukte wurden IR- und ^{13}C-NMR-Spektren von Piperiton aufgenommen (Abbn.53 und 54).

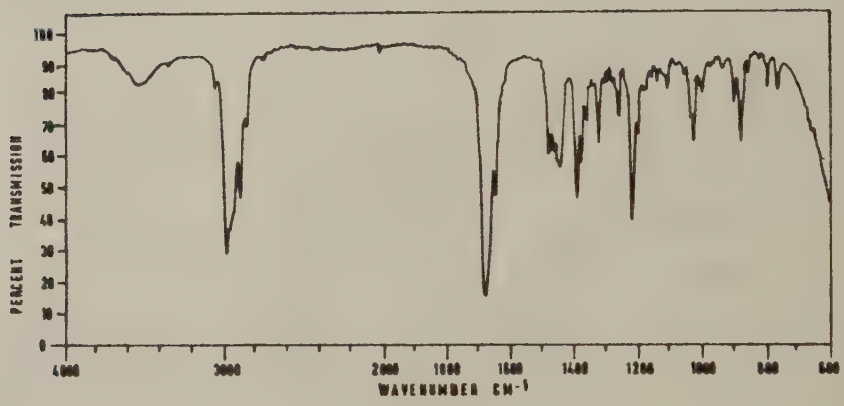


Abb.53: IR-Spektrum von Piperiton (19)

Absorptionsfrequenzen [cm^{-1}]	Zuordnung
2980, 2960, 2900, 2960	ν -C-H ges.
1675	$\nu_{C=O}$ α,β-ungesättigtes Keton
1370 und 1380	$\delta_{sym.}$ Isopropylgruppe

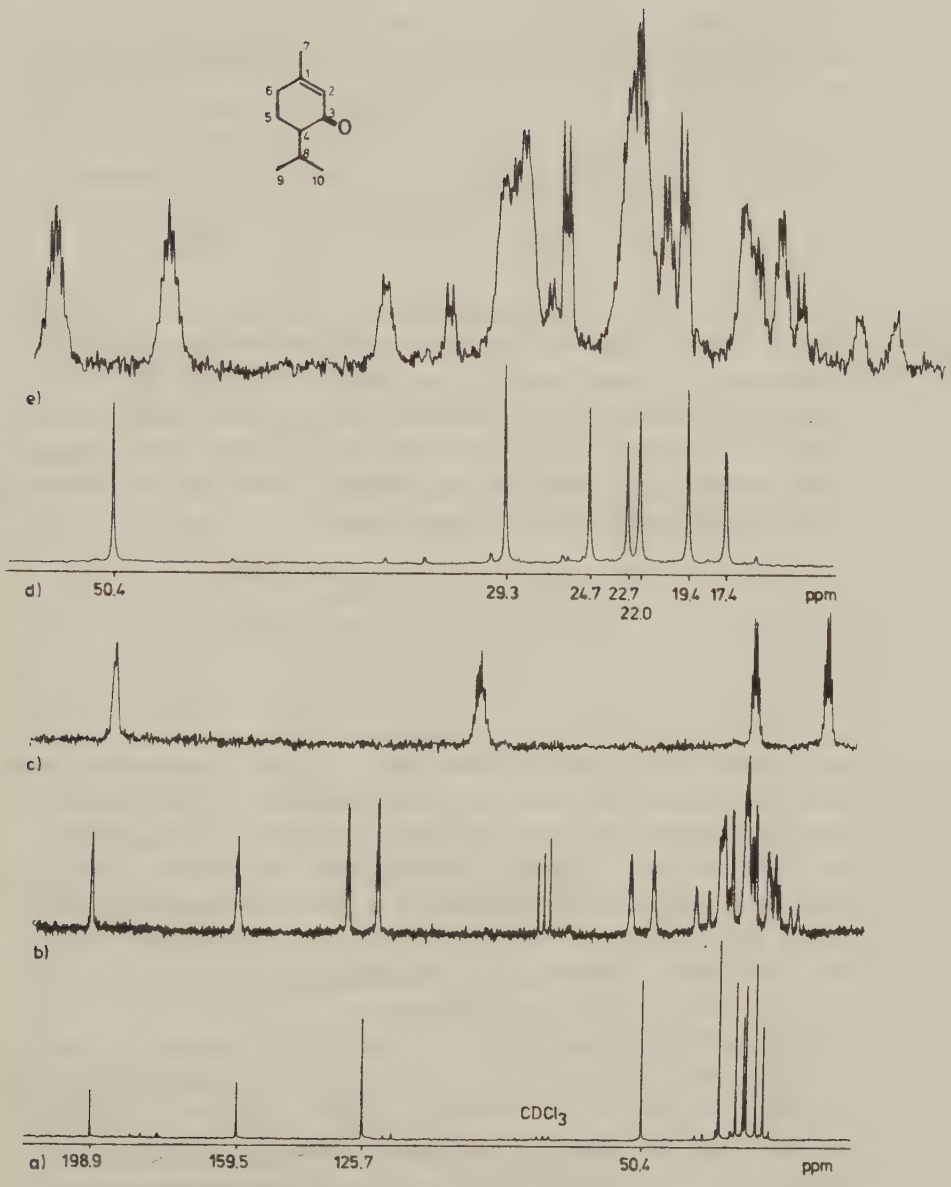
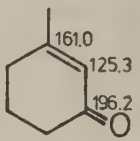
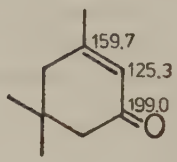


Abb.54a-e: ^{13}C-$\{^1H\}$-NMR-Spektren von Piperiton (19) in Deuterochloroform
a) breitbandentkoppeltes Spektrum
b) alternierend gepulstes Doppelresonanzspektrum
c) gespreizter Aromatenteilbereich von b)
d) gespreizter Aliphatenteilbereich von a)
e) gespreizter Aliphatenteilbereich von b)

Die Zuordnung der Signale erfolte durch Vergleich mit geeigneten Modellsubstanzen wie 3-Methyl-2-cyclohexenon und Isophoron[45].





Wie für zahlreiche α,β-ungesättigte Ketone beschrieben, tritt auch im Piperiton (19) das Signal des Carbonyl-C-Atoms bei höherem, diejenigen der Doppelbindung bei tieferem Feld in Resonanz als in den nicht-konjugierten Verbindungen. Dies ist durch den Beitrag der polarisierten Grenzstruktur 19a zum Zustand des Moleküls zu erklären:

19 19a

Die Formel zeigt, daß insbesondere C-1 stark entschirmt sein muß. Infolgedessen läßt sich das Signal bei 198.9 ppm dem Carbonyl-C-Atom, das bei 159.5 ppm dem C-1 (im Vergleich zum Limonen um 26 ppm zu tieferem Feld verschoben) und das bei 125.7 ppm dem C-2 zuordnen. Die Dublettaufspaltung von C-2 mit Fernsextett-Feinstruktur durch Kopplung mit 7-H_3 und 6-H_2 sowie die komplexen Fernkopplungen des Singuletts von C-1 bestätigen diese Zuordnung.
An seinem Erscheinen bei tiefem Feld (50.4 ppm) und seiner Fernkopplung mit den 6 Methylprotonen der Isopropylgruppe ist das Dublett von C-4 zu erkennen. Daraus folgt die Zuordnung des zweiten Dubletts bei 24.7 ppm, dessen Fernkopplung verdeckt ist, zu C-8. Die Methylgruppe an der Doppelbindung ist durch eine Ferndoppeldublettaufspaltung, hervorgerufen

durch eine größere vicinale Kopplung mit 2-H und eine kleinere mit 6-H, von den Isopropyl-Methylgruppen unterschieden und damit dem Signal bei 22.7 ppm zuzuordnen. Von den Triplettsignalen bei 29.3 und 22.0 ppm gehört das tieferliegende zu C-6, das höherliegende zu C-5. Damit ergibt sich die folgende Zuordnung:

Tab.22: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen von Piperiton (19) in $CDCl_3$

ppm	Multiplizität	J_{C-H} [Hz]	Zuordnung
198.9	S		C-3
	d	5 mit 2-H	
159.5	S		C-1
	m		
125.7	D	162 mit 2-H	C-2
	sext	5 mit 6-H_2 und 7-H_3	
50.4	D	128 mit 4-H	C-4
	sept	4 mit 9,10-H_6	
29.3	T	130 mit 6-H_2	C-6
	m		
24.7	D	130 mit 8-H	C-8
22.7	Q	129 mit 7-H_3	C-7
	dd	6 mit 2-H, 2.5 mit 6-H	
22.0	T	130 mit 5-H_2	C-5
19.4	Q	128 mit 9-H_3	C-9$^+$
	m		
17.4	Q	128 mit 10-H_3	C-10$^+$
	sext	4.5 mit ?	

+) Zuordnung paarweise austauschbar

Synthese von 20:

In einem Dreihalskolben mit Rührer, Tropftrichter und Rückflußkühler wurden 1,2 g (50 mmol) Magnesiumspäne mit 10 ml absolutem Ether übergossen. Unter Rühren wurde etwa 1/10 der Lösung von 8,55 g (50 mmol) p-Bromtoluol in 15 ml absolutem Ether zugetropft. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 1-2 Tropfen Brom sowie leichtes Erwärmen zum Anspringen gebracht. Anschließend wurde das restliche Bromtoluol unter weiterem Rühren so zugegeben, daß der Ether gelinde siedete. Gegen Ende des Eintropfens wurde im Wasserbad leicht erwärmt, bis sich fast alles Magnesium gelöst hatte.
In die entstandene GRIGNARD-Reagenzlösung wurde nach dem Abkühlen eine Lösung von 6,08 g (40 mmol) Piperiton (19) in 20 ml Ether langsam zugetropft. Nach Beendigung der Zugabe wurde auf dem Wasserbad noch 2 h erhitzt, abgekühlt und durch Zugabe von 10 g zerstoßenem Eis hydrolysiert. Der entstandene Niederschlag wurde mit gesättigter Ammoniumchloridlösung in Lösung gebracht, die etherische Schicht abgetrennt, die wäßrige Phase noch zweimal mit 30 ml Ether extrahiert, mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet.
Nach dem Abdestillieren des Ethers blieben 10,71 g eines gelben, viskosen Öles als Rohprodukt zurück.
Das DC des Rohprodukts (vgl. Abb.55) zeigt neben nicht umgesetztem Piperiton (hR_f: 18) zwei neu entstandene Substanzen mit hR_f = 59 und hR_f = 38. Verbindung 20 (hR_f = 38) wurde an ihrer Gelbfärbung mit konz. Schwefelsäure und Blaufärbung mit p-DMAB-Sprühreagens erkannt.

Verbindung 20 konnte durch Kristallisation nicht abgetrennt werden. Man erhielt nur die Substanz mit hR_f = 59, die sich aufgrund ihres Schmp. von 122°C, ihres IR- und ^{1}H-NMR-Spektrums als Bitolyl identifizieren ließ.
Ebenso scheiterte der Versuch, die beim Erhitzen durch Dehydratisierung entstehende Diene durch Vakuum-Destillation über eine Vigreux-Kolonne zu isolieren.

Daher wurde der gesuchte Alkohol 20 säulenchromatographisch abgetrennt.

Bedingungen der SC:

stationäre Phase: konventionelle Glassäule von 2,8 cm Innendurchmesser und 60 cm Länge, naß gefüllt mit 160 g Kieselgel 60 für die SC Merck Korngröße 0,063 - 0,200 mm

Fließmittel : Petrolether 50/70 + Ether 96 + 4

Probenmenge : 2,5 g Syntheseprodukt in 10 ml FM

dc Kontrolle der Fraktionen

Ausbeute : 1,030 g 3-p-Tolyl-1-p-menthen-3-ol (20) (k' ≈ 1,4) ≙ 45% d.Th. als farbloses viskoses Öl

Synthese von 21

Die Darstellung wurde analog der Synthese von 20 mit folgenden Ausgangssubstanzen durchgeführt:

0,24 g (10 mmol) Magnesium in 10 ml Ether

1,57 g (10 mmol) Brombenzol in 1,5 ml Ether

1,21 g (8 mmol) Piperiton in 1,5 ml Ether

Ausbeute : 1,85 g gelbes öliges Rohprodukt (DC vgl. Abb.55)

Auch dieses Syntheseprodukt wurde säulenchromatographisch getrennt.

Bedingungen der SC:

stationäre Phase: konventionelle Glassäule von 1,4 cm Innendurchmesser und 17 cm Länge, naß gefüllt mit 13 g Kieselgel 60 für die SC Merck Korngröße 0,063 - 0,200 mm

Fließmittel : Petrolether 50/70 + Ether 97 + 3

Probenmenge : 150 mg Syntheseprodukt in 1 ml FM

dc Kontrolle der Fraktionen

Ausbeute : 0,128 g 3-Phenyl-1-p-menthen-3-ol (21) (k' ≈ 3) ≙ 85% d.Th. als farbloses viskoses Öl.

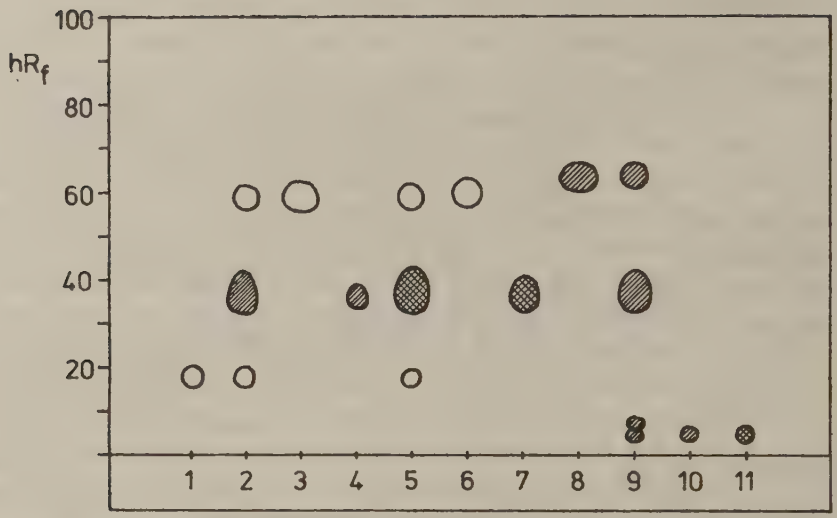


Abb.55: DC der Syntheseprodukte von 20 und 21, ihrer Ausgangs-, Begleit- und Folgesubstanzen
DC-Bedingungen: Kieselgel 60, Petrolether 50/70 + Ether 90 + 10, KS, Trennstrecke 10 cm
Detektion: 1) UV 254 nm, 2) konz. Schwefelsäure 3) p-DMAB-Sprühreagens

gelb mit 2), blau mit 3)

gelb mit 2), blauviolett mit 3)

1 = Piperiton
2 = Syntheseprodukt 20
3 = Bitolyl
4 = 20
5 = Syntheseprodukt 21
6 = Biphenyl
7 = 21
8 = Diengemisch 24a,b,c aus 20
9 = 20, nach 1 Monat Aufbewahrung in Petrolether-Lösung im Kühlschrank
10 = 31
11 = 32

Die Alkohole 20 und 21 zeigten eine große Tendenz zur Dehydratisierung. Bei Säulentrennungen mit langer Verweildauer der Substanzen auf der Säule (größer dimensionierte Säulen, kleinere Durchflußrate, kleinere FM-Stärke) oder höherer Temperatur (> 30°C Raumtemperatur im Sommer) wurden die in den Syntheseprodukten enthaltenen Alkohole auf der Säule vollständig dehydratisiert, und man erhielt ausschließlich das Gemisch der entsprechenden Diene (24a,b,c). Ebenso genügten Säurespuren an den Gefäßen, um eine Dehydratisierung auszulösen.
Auch bei der Aufbewahrung der isolierten Substanzen (ebenso wie in den Syntheseprodukten) im Kühlschrank in Petroletherlösung bildeten sich neben weiteren Folgeprodukten (vgl. DC Abb.55), die ihrerseits instabil waren, erhebliche Mengen an Dien-Gemisch.

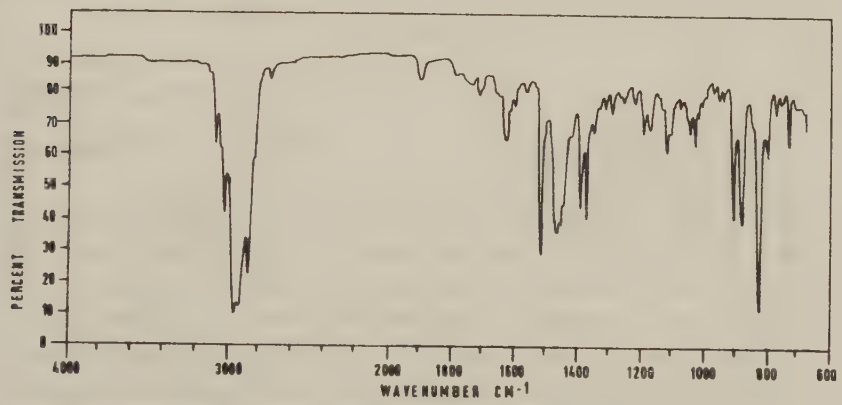
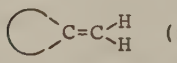
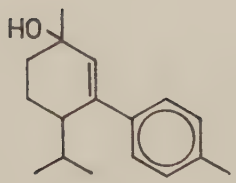


Abb.56: IR-Spektrum des Dien-Gemisches 24a, 24b, 24c aus 20

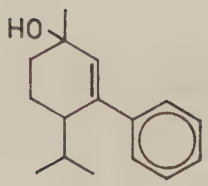
zu Abb.56:

Absorptionsfrequenz [cm^{-1}]		Zuordnung
3080 - 3020		$\nu_{=C-H}$
(3080)		(ν C=C$\begin{smallmatrix}H\\H\end{smallmatrix}$ zu 24a)
2980 - 2830		ν_{-C-H}
2000 - 1600	(w)	aromatische Ober- und Kombinationsschwingungen
1625	(m)	$\nu_{C=C-\varphi}$ Doppelbindung in Konjugation zum Aromaten
1510		$\nu_{C=C}$ aromatisch
1480 - 1430		δ_{-C-H}
1390 und 1370		$\delta_{symm.CH_3}$ Isopropylgruppe
900	(m)	$\gamma_{=C-H}$ (korrespondierend zu 3080) für exocyclische Doppelbindung
		 (zu 30a)
820	(s)	$\gamma_{=C-H}$ 1.4-disubst.Aromat

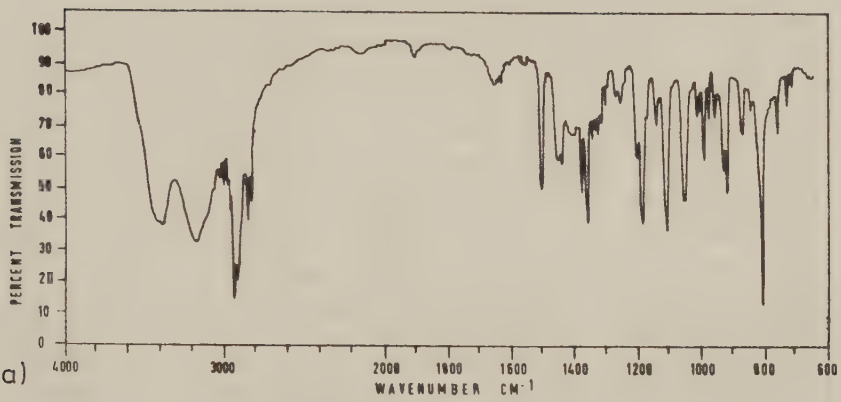
Eines der Folgeprodukte (31 bzw. 32) kristallisierte spontan aus der im Kühlschrank aufbewahrten Petroletherlösung der Syntheseprodukte aus. Beim Phenylderivat 21 erschien 32 bereits nach 3 Tagen im Form weißer Kristalle (Schmp. 84°C), beim Tolylderivat 20 bildete sich 31 nach einigen Wochen als mikrokristalline Substanz in Form weißer Kügelchen (Schmp.110°C). Die spektroskopischen Daten und chromatographischen Eigenschaften zeigen, daß die Folgeprodukte Homologe sind, die sich nur in der aromatischen Methylgruppe unterscheiden. 31 und 32 ergeben in konz. Schwefelsäure identische Elektronenspektren zu 20 und 21 und lassen im Vergleich ihrer IR-Spektren keine wesentlich neuen Strukturelemente erkennen. Da die Massenspektren beweisen, daß es sich um Isomere der ursprünglichen Alkohole handelt, werden für 31 und 32 die folgenden Strukturen vorgeschlagen.



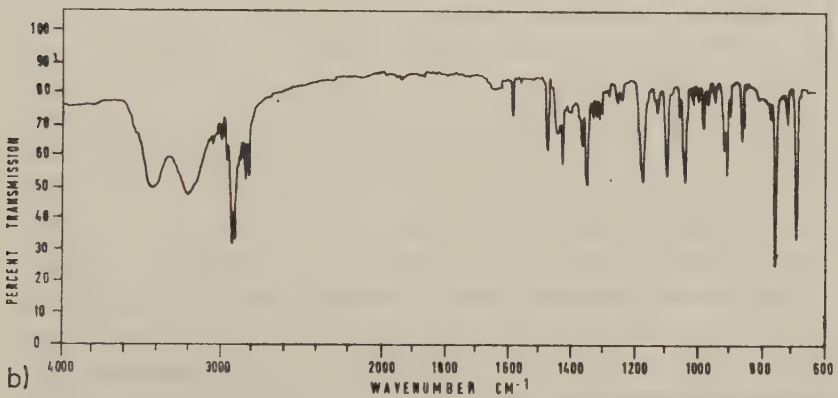
31



32



a)



b)

Abb.57a,b: IR-Spektren von 31 und 32

Absorptionsfrequenzen [cm^{-1}]		Zuordnung
31	32	
3400 und 3200	3440 und 3220	ν_{O-H}
3040, 3020, 2980	3060,3020, 2980	$\nu_{ass + symm. =C-H}$
2955, 2935, 2860 und 2840	2950, 2930, 2860 und 2840	
1510	1595 und 1485	$\nu_{C=C}$
1380 und 1365	1380 und 1360	$\delta_{C-(CH_3)_2}$ Isopropylgruppe
810		$\gamma_{=C-H}$ 1,4-disubst. Aromat
	770 und 700	$\gamma_{=C-H}$ monosubst. Aromat

Tab.23: Massenfragmente aus 31 und 32

32		31		M - x	Zuordnung
m/e	%	m/e	%		
231	17	245	13	M + 1	
230	63	244	60	$M^{+\cdot}$	Molekül-Ion
215	100	229	100	M - 15	- Methylradikal durch β-Spaltung
212	10	226	9	M - 18	- Wasser
187	12	201	9	M - 43	- $C_3H_7^{\cdot}$ (- $CH_2{=}CH_2$, - $CH_3^{\cdot}$)
170	23	184	10	M - 60	
160	46	174	18	M - 70	- C_5H_{10}
159	18	173	5	M - 71	- $C_5H_{11}^{\cdot}$
145	21	159	26	M - 85	- $C_6H_{13}^{\cdot}$
105	18	105	24		$C_8H_9^+$
91	19	91	8		$C_7H_7^+$
77	21	77	5		$C_6H_5^+$

Zu 5.3 und 8.3.1 ^{13}C-NMR-Spektren der Modellsubstanzen in konz. Schwefelsäure

Lösungen der Carbeniumionen 22, 25, 29 und 30 in Schwefelsäure, die zur Aufnahme der ^{13}C-NMR-Spektren verwendet werden sollen, müssen aufgrund ihrer hohen Substanzkonzentration (≈ 300 mg/ml) unter besonderen Vorsichtsmaßnahmen aus den entsprechenden Vorläuferalkoholen hergestellt werden, da sonst in erheblichem Maße Nebenreaktionen eintreten. In den vorliegenden Untersuchungen hat sich folgende Methode bewährt: 1 ml Schwefelsäure-Deuteroschwefelsäure-Gemisch wird in einem starkwandigen Reagenzglas mit Kugelfisch im

Eisbad auf einem Magnetrührer vorgelegt. Unter kräftigem Rühren wird die Lösung des betreffenden Vorläuferalkohols in Dichlormethan (300 mg/2 ml) durch eine feine Kapillare langsam zugetropft (>1 h). Das überstehende Dichlormethan wird abpipettiert und durch Einleiten eines Stickstoffstromes weiter reduziert. Ein Rest soll in der Lösung bleiben, da sein Signal als Referenzsignal (CH_2Cl_2 in konz. D_2SO_4: 55.3 ppm) verwendet wird. TMS bzw. TMS-Na sind für diesen Zweck in konz. Schwefelsäure ungeeignet, da sie sich nicht lösen bzw. zersetzen.

Zu 6. Kinetische Messungen

Zu den Abbn. 29a,b und 30a,b

Jeweils 3 ml einer 10^{-2} molaren Stammlösung in Petrolether 50/70 von 20 bzw. 21 (≙ 7,32 mg bzw. 6,9 mg) wurden im Schliffreagenzglas am Rotationsverdampfer zur Trockne gebracht und mit 3 ml einer 1 molaren Lösung von p-DMAB in konz. Schwefelsäure (149,2 mg/ml) versetzt. Nach 1 min im Ultraschallbad wurde der Reaktionsansatz in ein auf 60°C thermostatisiertes Wasserbad gehängt (t= 0). Im Abstand von zunächst 2, dann 3, dann 6 min (20, vgl. Abb.30b) bzw. 25, dann 45, dann 60 sec (21, vgl. Abb.29b) wurden jeweils 0,1 ml Reaktionslösung mit einer Eppendorfpipette entnommen, in vorbereitete Reagenzgläser zu 0,9 ml Schwefelsäure (Bürette) pipettiert und nach gutem Durchmischen sofort weiter (0,1 ml + 4,9 ml) auf die Meßkonzentration von $2 \cdot 10^{-5}$ mol/l (bezogen auf 20 bzw. 21) verdünnt. Nach Beendigung der Meßreihe wurden die Extinktionen in den Maxima bestimmt und jeweils einige charakteristische Absorptionskurven aufgenommen. Die Lösungen zu den Abbn. 31 bis 33 wurden in derselben Weise, jedoch unter Variation der eingesetzten Mengen (vgl. Tab.24) hergestellt.

Tab.24: Eingesetzte Substanzmengen, Reaktionsbedingungen und Verdünnungsschritte zu den Abbn. 31 bis 33

Abb.Nr	Konz. der Reaktionslsg. CBD : p-DMAB	Ausgangsmengen CBD	p-DMAB	Ultra-schall	Verdünnungs-schritte
31	10^{-2} : 1	1ml 10^{-2}M Lsg. ≙ 3,14 mg	1ml 1M Lsg. ≙ 149,2 mg	1 min	0,1 + 0, 0,1 + 4,
32	10^{-3} : 10^{-1}	0,1ml 10^{-2}M Lsg. ≙ 0,314 mg	1ml 10^{-1}M Lsg. ≙ 14,92 mg	1 min	0,1 + 4,
33	10^{-3} : 10^{-2}	0,3ml 10^{-2}M Lsg. ≙ 0,942 mg	3ml 10^{-3}M Lsg. ≙ 4,47 mg	1 min	0,1 + 4,

Zu den Abbn. 34 bis 36

Jeweils 0,1 ml der 10^{-3}M Stammlösungen in Petrolether von CBD bzw. 20 bzw. 21 (≙ 0,0314 mg bzw. 0,0244 mg bzw. 0,023 mg) wurden im Meßkolben einrotiert, mit Schwefelsäure (Abb.35) bzw. $2 \cdot 10^{-5}$M p-DMAB/Schwefelsäure zu 5,0 ml aufgefüllt und zur Vervollständigung des Lösevorganges 2 min in ein Ultraschallbad gebracht. Die gefüllten Küvetten wurden 1 min vortemperiert und für die Messungen und die weitere Reaktion in ein Photometer mit thermostatisiertem Probenraum gebracht (Beckman DB-GT).

Zu 8.1

Synthese von 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-1-cyclohexen-3-on (26)

Zur Synthese von 26 wurde die Vorschrift von DEWAR[23] folgendermaßen abgewandelt: Eine Lösung von 5,96 g (40 mmol) p-DMAB und 6,08 g (40 mmol) Piperiton in 20 ml trockenem Methanol wurde im Eisbad gekühlt und unter kräftigem Rühren tropfenweise

mit einer vorgekühlten Lösung von 1,6 g (≈ 70 mmol) Natrium in 20 ml Methanol versetzt.
Nach Beendigung der Alkoholatzugabe wurde das Kühlmittel entfernt und die Lösung 4 Tage bei Raumtemperatur aufbewahrt. Die ersten, bereits in der Reaktionslösung auskristallisierten gelben Nadeln wurden abgenutscht, die restliche Lösung mit Wasser hydrolysiert und mit Dichlormethan ausgeschüttelt. Die Lösung wurde eingeengt, zum Ausfällen des Ketons mit Methanol versetzt, die Kristalle abgenutscht und aus Aceton umkristallisiert.
Ausbeute 8,26 g ≙ 73% d.Th. in Form von gelben, glänzenden Kristallnadeln vom Schmp. 118 - 120°C.
UV: (in Methanol) λ_{max} (ε) 404 nm (28 900)
270 nm (15 000)

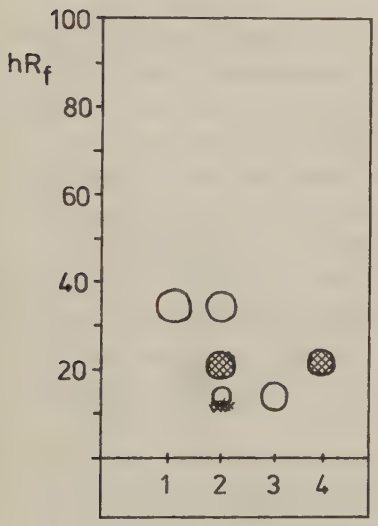


Abb.58: DC des Syntheseprodukts 26

Sorbens: Kieselgel 60 F_{254}
FM: Cyclohexan + Ethylacetat
80 + 20, KS
Detektion: UV

Fluoreszenzlöschung bei 254 nm

gelborange Fluoreszenz bei 366 nm

1 = Piperiton
2 = Reaktionsansatz von 26
3 = p-DMAB
4 = Keton 26 nach Kristallisation

Zu 8.2

Synthese von 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-phenyl-1-cyclohexen-3-ol (27) und 1-p-Dimethylaminostyryl-4-isopropyl-3-p-tolyl-1-cyclohexen-3-ol (28)

In einem Dreihalskolben mit Rührer, Rückflußkühler und Tropftrichter wurden zu einer Suspension von 780 mg (32 mmol) Magnesium in 8 ml Ether etwa 2 ml einer Lösung von 5,02 g (32 mmol) Brombenzol in 12 ml Ether zugetropft. Nach Zusatz eines Tropfens Brom, der das Anspringen der Reaktion bewirkte, wurde der Kolben in ein warmes Ultraschallbad gebracht und die restliche Lösung so zugetropft, daß der Ether konstant siedete. Nach Beendigung der Zugabe wurde noch 10 min im Wasserbad erhitzt, bis praktisch alles Magnesium gelöst war.
Die GRIGNARD-Reagens-Lösung wurde auf 0°C abgekühlt und tropfenweise mit der Lösung von 2,26 g (8 mmol) Keton 26 in 10 ml Dichlormethan versetzt, auf Raumtemperatur gebracht und weitere 5 h gerührt. Durch Zugabe von Eis und gesättigter Ammoniumchloridlösung wurde hydrolysiert und 3 mal mit 20 ml Ether ausgeschüttelt. Die etherische Phase wurde mit Wasser gewaschen, getrocknet und im Vakuum auf 10 - 20 ml eingeengt. Durch vorsichtigen Zusatz von Petrolether wurde die Kristallisation des Alkohols eingeleitet. Das Rohprodukt (1,81 g ≙ 62,8% d.Th.), das neben Keton 26 noch andere gelbe Substanzen enthielt (Abb.59), wurde aus Methanol umkristallisiert, und ergab 1,63 g (56%) 27 in Form blaßgelber glänzender Prismen vom Schmp. 136 - 140°C.

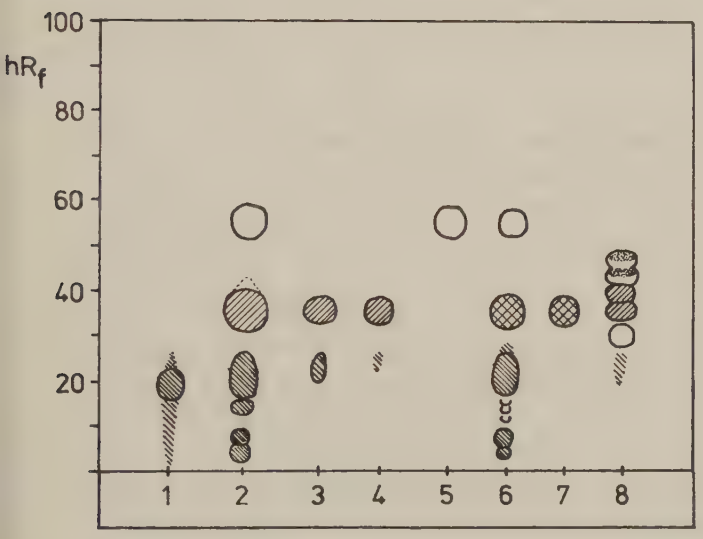
UV: λ_{max} [nm] (ε) in Methanol 324 (39 500)
in konz. Schwefelsäure 527 (80 700)
in 1proz. methanolischer Schwefelsäure
578 (≈ 35 000, Zersetzu

Synthese von 28

Die Darstellung wurde analog der Synthese von 27 mit folgenden Ausgangssubstanzen durchgeführt:
780 mg (32 mmol) Magnesium in 8 ml Ether
5,47 g (32 mmol) p-Bromtoluol in 12 ml Ether
2,2 g (8 mmol) Keton 26 in 10 ml Dichlormethan

Ausbeute 1,34 g (45% d.Th.) 28 als gelbe Kristalle vom Schmp. 128 - 132°C

UV λ_{max} [nm] (ε) in Methanol 322 (26 800)
in konz. Schwefelsäure 539 (99 600)
in 1proz. methanolischer Schwefelsäure
597 ($\approx$38 000, Zersetzung)



1 = Keton 26
2 = Syntheseprodukt 28
3 = Rohprodukt 28
4 = 28 nach Umkristallisation
5 = Bitolyl
6 = Syntheseprodukt 27
7 = 27 nach Umkristallisation
8 = 28 5 Tage in CH_2Cl_2 aufbewahrt bei 5°C

Abb.59: DC der Syntheseprodukte von 27 und 28
Kieselgel 60 F_{254}
FM: Petrolether 50/70 + Ether 60 + 40, KS
Detektion 1) UV 254 nm und 366 nm, 2) 20proz. methanol. Schwefelsäure

Fluoreszenzlöschung bei 254 nm
gelborange Fluoreszenz bei 366 nm
Blaufärbung mit 2)
Blauviolettfärbung mit 2)
hellblaue Fluoreszenz bei 254 nm

Die Alkohole 27 und 28 werden schon durch Spuren von Säure blau gefärbt. Dafür genügen z.B. schon die Säurespuren in nicht zuvor über $KHCO_3$ neutralisiertem $CDCl_3$ oder die sauren Eigenschaften von aktivem Kieselgel. 27 und 28 sind in kristalliner Form monatelang haltbar, zersetzen sich jedoch rasch in Lösung. Methanolische Lösungen sind vergleichsweise stabil, während Lösungen in Dichlormethan innerhalb weniger Tage mehrere weitere, sich mit Säure blau färbende Substanzen hervorbringen (vgl. Abb.59).

12. Literaturverzeichnis

1) T.B. Wood, W.T.N. Spivey und T.H. Easterfield, J.Chem. Soc. 75,20 (1899).
2) R.S.Cahn, J.Chem.Soc. 1930, 986, 1931, 630, 1932, 1342, und 1933, 1400.
3) Y. Gaoni und R. Mechoulam, J.Amer.Chem.Soc. 86, 1646 (1964).
4) K.-A. Kovar, M. Noy und R. Pieper, Dtsch.Apoth.Ztg. 122, 3 (1982).
5) W. Beam, 4thRept. Wellcome Trop.Res.Lab.Chem.Sect. Karthoum B25 (1911); ibid. Bull. No. 3 (1915); zitiert in Chem. Zentr. 1255, 1924 II.
6) M.A. Ghamrawy, J.Egypt.Med.Assoc. 20, 193 (1938).
7) P.H. Duquenois und M. Negm, J.Egypt.Med.Assoc. 21, 224 (1938).
8) W.P. Butler, J.Assoc.Off.Agric.Chem. 45, 597 (1962).
9) F. Korte und H. Sieper, J.Chromatogr. 13, 90 (1964).
10) Dissertation B. Hammer-Barthels, Bonn 1976
11) R. Mechoulam, Z. Ben-Zvi und Y. Gaoni, Tetrahedron 24, 5615 (1968).
12) R. Mechoulam und H. Zemler, unveröffentlicht, zitiert von M.D. Willinsky in: R. Mechoulam (Hrsg.): Marijuana, S. 143, Academic Press, New York, London 1973.
13) C.G. Pitt, R.W. Hendron und R.S. Hsia, J.forens.Sci. 27, 693 (1972).
14) W. Arnold: "Cannabis". In: E. Graf und Fr.R. Preuß (Hrsg.): Gadamers Lehrbuch der chemischen Toxikologie und Anleitung zur Ausmittelung der Gifte, Bd. I/2. 3.Aufl., S. 211, Vandenhoeck&Ruprecht, Göttingen 1979.
15) G. Machbert und A. v. Lukowicz, Pharm.Ztg. 15, 517 (1971).
16) W. Völksen, Dtsch.Apoth.Ztg. 110, 1869 (1970).
17) United Nations Secretariat, Document ST/SOA/SER.S/1 (1960).
18) United Nations Secretariat, Document ST/SOA/SER.S/5 (1961).
19) G. Machata, Arch.Toxikol. 25, 19 (1969).
20) B. Kakáč und Z.J. Vejdeľek, Handbuch der photometrischen Analyse organischer Verbindungen Bd. I und II, Verlag Chemie, Weinheim 1974.

21) H. Möhrle und G. Waldheim, Dtsch.Apoth.Ztg. 121, 650 (1981).
22) U. Pindur, Monatsh.Chem. 111, 459 (1980).
23) K.-H. Brieskorn und H. Otteneder, Chem.Ber. 103, 363 (1970).
24) H. Auterhoff und C.-J. Lang, Arch.Pharm. 305, 845 (1972).
25) N.C. Deno, D.B. Boyd, J.D. Hodge, C.U. Pittman jr. und J.O. Turner, J.Am.Chem.Soc. 86, 1745 (1964).
26) H. Auterhoff und H. Bertram, Arch.Pharm. 307, 742 (1974).
27) H. Auterhoff und J. Oswald, ibid. 307, 887 (1974).
28) G.A. Olah, C.U. Pittman jr. und M.C.R. Symons: "Electronic Spectra". In: G.A. Olah and P. von R. Schleyer (eds.): Carbonium Ions, Vol. I, p.176 Wiley Interscience, New York-London-Sydney 1968.
29) R.K. Razdan, G.C. Dalzell und G.R. Handrick, J.Am.Chem.Soc. 96, 5860 (1974).
30) M. Jautelat, J.B. Grutzner und J.D. Roberts, Proc.Nat. Acad.Sci. 65, 288 (1970).
31) E. Wenkert, D.W. Cochran, F.M. Schell, R.A. Archer und K. Matsumoto, Experientia 28, 250 (1972).
32) E. Breitmaier und G. Bauer, ^{13}C-NMR-Spektroskopie, S.61, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1977.
33) E. Pretsch, Th. Clerc, J. Seibl und W. Simon, Tabellen zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen mit spektroskopischen Methoden, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1976.
34) N.C. Deno, J. Bollinger, N. Friedman, K. Hafer, J.D. Hodge und J.J. Houser, J.Am.Chem.Soc. 85, 2998 (1963).
35) N.C. Deno und J.J. Houser, ibid. 86, 1741 (1964).
36) G.A. Olah und R.J. Spear, ibid. 97, 1539 (1975).
37) N.C. Deno, N. Friedman, J.D. Hodge und J.J. Houser, ibid. 85, 2995 (1963).
38) N.C. Deno und C.U. Pittman jr., ibid. 86, 1744 (1964).
39) O. Kriewitz, Ber.Dtsch.Chem.Ges. 32, 57 (1899).

40) vgl. dazu H. Kropf: " Alkohole durch Aufbaureaktionen" in: Houben-Weyl: Methoden der organischen Chemie Bd.VI/1a Teil II S. 1411 ff, Thieme Verlag, Stuttgart-New York 1980
und H. Söll: "Umwandlung von Olefinen" in: Houben-Weyl: Methoden der organischen Chemie Bd.V/1b S. 1040 ff, Thieme Verlag, Stuttgart 1972.

41) G.B. Gill und B. Wallace, Chem.Commun. 1977, 380.

42) K. Hafner und H. Pelster, Angew.Chem. 73, 342 (1961).

43) J. Dewar, D.R. Morrison und J. Read, J.Chem.Soc. 1936, 1598.

44) H. Auterhoff und K. Fuchs, Dtsch.Apoth.Ztg. 109, 537 (1969).

45) E. Breitmaier und W. Voelter, ^{13}C-NMR-Spectroscopy, S. 165, Verlag Chemie Weinheim, New York 1978.

Lebenslauf

Name:	Sibylle Keilwagen
Geburtstag:	21. November 1952
Geburtsort:	Heilbronn/Neckar
Eltern:	Alfred Keilwagen, Mechanikermeister und Margarethe, geb. Kercher, Apothekenhelferin

Schulischer Werdegang

Grundschule:	Wartbergschule Heilbronn April 1959 bis März 1963
Gymnasium:	Elly-Heuss-Knapp-Gymnasium Heilbronn April 1963 bis Juni 1971
Reifeprüfung:	Juni 1971

Beruflicher Werdegang

Apothekenpraktikum:	Engel-Apotheke Heilbronn Oktober 1971 bis September 1973
Pharm.Vorprüfung:	September 1973 in Stuttgart
Apothekentätigkeit:	Oktober 1973 bis März 1974 in der Engel-Apotheke Heilbronn
Studium der Pharmazie:	April 1974 bis Oktober 1977 Universität Heidelberg
Pharm.Prüfung 1.Abschnitt:	März 1976
Pharm.Prüfung 2.Abschnitt:	Oktober 1977
Approbation:	17. November 1977
Beginn der vorliegenden Arbeit:	Januar 1978
Abschluß der Arbeit:	März 1983
Wiss. Hilfskraft:	April 1978 bis September 1979
Wiss. Angestellte:	Oktober 1979 bis März 1983

Meine akademischen Lehrer außer Herrn Prof.Dr.K.-A.Kovar waren die Professoren und Dozenten:

H.Auterhoff, R.Neidlein, G.Schwenker, H.Stamm (Pharmazeutische Chemie)
J.Jander, F.Baumgärtner (Chemie)
J.Heintze (Physik)
H.Vogt (Pharmazeutische Technologie)
H.Becker (Pharmazeutische Biologie)
D.Krüger (Mikrobiologie und Hygiene)
E.Hackenthal, H.P.T.Ammon (Pharmakologie)

Druck und Gesamtherstellung:
H. Hummel, Bismarckstr. 116/6
D-7410 Reutlingen, Tel. 0 71 21/4 53 77